

MICHELE FABRICIA TOLOTTI

**PROTETORES SOLARES À BASE DE FILTROS INORGÂNICOS:
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO**

GUARAPUAVA

2012

MICHELE FABRICIA TOLOTTI

**PROTETORES SOLARES À BASE DE FILTROS INORGÂNICOS:
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual do Centro Oeste em Associação ampla com a Universidade Estadual de Ponta Grossa para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas
Área de concentração: Desenvolvimento e Controle de Fármacos, Medicamentos e Correlatos.

Orientador: Prof. Dr. Daniel de Paula

Co-Orientador: Prof.Dr. Pedro Pablo González Borrero

GUARAPAUAVA

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Alcides e Ivanir, pelo amor, carinho, dedicação, incentivo e apoio em todas as minhas escolhas e decisões, por me permitirem chegar até onde cheguei e ser o que sou.

Mãe, muito obrigada pela incansável batalha de AMAR, o que foi fundamental nesta jornada para realização de mais este sonho.

A vocês, meus eternos “professores”, agradeço pelos ensinamentos desta grandiosa arte que é viver.

Com todo meu reconhecimento e gratidão a vitória desta dedico com todo meu amor, unicamente, a vocês meus amores eternos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço sempre a DEUS, pois foi quem sempre me confortou e amparou durante todos os momentos difíceis no decorrer do desenvolvimento deste trabalho e dos demais momentos da minha vida, Nele, encontrei coragem e determinação para seguir adiante em busca dos meus objetivos.

Ao Professor Dr. Daniel de Paula, por ter idealizado e me orientado nesse estudo, possibilitando sua realização, pela confiança, eficiência, valiosas ajudas dadas no decorrer do meu aprendizado, as quais me fizeram crescer profissionalmente meu carinho e reconhecimento.

Ao Professor Pedro Pablo pelos ensinamentos, ajuda inestimável durante vários passos da elaboração deste trabalho.

Aos professores da Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Emerson, Najeh, Rubiana, Marco Aurélio e Luiz Fernando pelos ensinamentos.

À acadêmica de Farmácia Dayane Cristina de Moraes, meu carinho pelo incentivo, amizade e parceria constantes. Agradeço todo o apoio recebido.

Ao acadêmico de Física Edson Rafael Cardozo, pela importante ajuda nas análises de fotoacústica e elaboração dos gráficos, meu muito obrigada.

Aos professores membros da banca de qualificação Elisa e Ricardo, pelas importantes sugestões e essencial contribuição ao trabalho final.

Aos professores membros da banca de defesa Marcos e Weber pelo gentil aceite e valiosas considerações.

Às minhas colegas da Pós-Graduação Luciana “farmacêutica”, Luciana “veterinária”, Lígia, Caroline, Thuane, e Sheila pela companhia e disciplinas e carinho nos momentos de tensão.

Em especial, ao João Paulo, pela compreensão nos momentos de ausência, paciência nos momentos de crise, pelo apoio, carinho, confiança e pelos momentos felizes que temos compartilhado.

Quero agradecer de peito aberto e alma explosiva à minha Mãe, que foi presença constante em cada fase deste trabalho, que esteve ao meu lado nas horas que chorei e nas horas que sorri nas horas que me lamentei e nas horas em que de uma forma ou de outra demonstrei total alegria. Quero lhe agradecer por todos seus sorrisos diários, pelos meus dias de mau humor em que você me suportou sem mágoas e ainda me deu colo, pelas doces palavras nos momentos amargos, por todas suas orações e por milhares de outras coisas que nós duas sabemos, e dizer Mãe, que ACABOU!!!!

Enfim, a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para que este percurso pudesse ser concluído.

Muito obrigada!

*“O mais importante da vida não é a situação em que estamos,
mas a direção para a qual nos movemos.”*

Oliver W. Holmes

RESUMO

Os filtros solares inorgânicos, representados principalmente pelo dióxido de titânio (TiO_2) e óxido de zinco (ZnO), classificados como partículas inertes, são apontados como a melhor maneira de proteger a pele contra os efeitos nocivos da radiação ultravioleta (UV). Porém, estudos recentes sugerem que estes apresentam problemas de estabilidade, podendo levar a um comprometimento da segurança e eficácia dos produtos fotoprotetores. Nesse sentido, a hidroxiapatita (HAP) tem sido investigada como alternativa à formulação de fotoprotetores, agindo como filtro inorgânico. Visualizando a necessidade do desenvolvimento de protetores solares com baixo risco biológico e alto fator de proteção solar (FPS) à base de filtros inorgânicos, o presente trabalho visou investigar mecanismos de otimização dos parâmetros de formulação de fotoprotetor à base de filtros inorgânicos. Dessa forma, avaliou-se a influência do revestimento e tamanho de partícula na atividade fotocatalítica do ZnO , TiO_2 e HAP, frente às radiações UVA, UVB e UVA/UVB por meio de análise da taxa de degradação do substrato orgânico azul de metileno. Empregando-se microscopia óptica, foram investigadas possíveis incompatibilidades entre os filtros inorgânicos e diferentes alfa hidroxiácidos comumente empregados em produtos contendo FPS. Foram desenvolvidos fotoprotetores à base de ZnO micronizado; TiO_2 alumina; ZnO micronizado+ TiO_2 alumina e HAP, contendo 15% de filtro inorgânico. Os cremes base foram preparados na forma de emulsão óleo em água (O/A) variando a concentração e natureza dos agentes emolientes, co-emulsionante não-iônico e formador de filme. A influência do método de preparo nas propriedades físico-químicas dos fotoprotetores foi avaliada utilizando-se dois processos distintos: incorporação dos filtros solares ao veículo por meio de uma pré-dispersão e pelo método convencional. Com o intuito de avaliar o comportamento de componentes que podem interferir em aspectos da formulação, foram desenvolvidas pré-dispersões acrescidas de manteiga de karité. As formulações desenvolvidas foram caracterizadas físico-quimicamente e submetidas a ensaios de estabilidade. O potencial zeta e o tamanho médio das partículas foram determinados utilizando um Zetasizer 3000 HSA. Em um espectrofotômetro fotoacústico, foram realizadas análises para avaliar a capacidade de absorção de luz UV dos protetores solares desenvolvidos. O estudo de fotocatalise sugeriu que o revestimento de filtros inorgânicos representa a melhor alternativa para inibir a atividade fotocatalítica destas partículas. Os ácidos glicólico e lático apresentaram incompatibilidades apenas com o ZnO . Na análise fotoacústica, verificou-se que os produtos apresentaram efetiva absorção UV, conforme características dos filtros inorgânicos. As análises das caracterizações físico-químicas e estabilidade propõem que o método de formulação a partir de uma pré-dispersão é o mais adequado para obtenção de um produto estável e seguro. As formulações à base de HAP, porém, representaram uma exceção, pois estas apresentaram-se estáveis independente do método de incorporação ao creme base. Os resultados apontam que, para a obtenção de um protetor solar seguro e eficaz, é de fundamental importância atentarmos para os critérios de formulação, como a seleção adequada dos excipientes e técnica de preparo.

Palavras – chave: dióxido de titânio, óxido de zinco, hidroxiapatita, protetor solar, estratégias de formulação.

ABSTRACT

The inorganic sunscreens represented mainly by titanium dioxide (TiO_2) and Zinc Oxide (ZnO), were classified as inert particles, therefore, they are pointed out as the best way to protect the skin against the harmful effects of ultraviolet radiation (UV). However, recent studies suggest that these particles have several stability problems that may lead to a compromise of safety and efficacy of photoprotective products. In this sense, the hydroxyapatite (HAP) has been investigated as an alternative to sunscreen formulation, playing the role of inorganic filter. Viewing the need for the development of sunscreens with low biological risk and high sun protection factor (SPF) based on inorganic filters, the present work aimed to investigate optimization mechanisms of the sunscreen based inorganic filters formulation. Thus, were evaluated the influence of coating and particle size on the photocatalytic activity of ZnO , TiO_2 and HAP in the presence to UVA, UVB and UVA/UVB radiation by analysis of the rate of degradation of the organic substrate methylene blue. Employing optical microscopy, were investigated possible incompatibilities between the inorganic filters and different alpha hydroxyacids commonly used in products containing SPF. Were developed sunscreens based on micronized ZnO , TiO_2 alumina, ZnO + micronized TiO_2 alumina and HAP containing 15% of inorganic filter. Were prepared oil-in-water (O/W) creams from the variation of the concentration and nature of emollient agents, nonionic co-emulsifier and film-former. The influence of preparation method on the physicochemical properties of sunscreens was evaluated using two different methods: incorporation of inorganic filters to the vehicle by means of a pre-dispersion and the conventional method. In order to evaluate the behavior of components that can interfere with the SPF and stability aspects of the formulation, were developed pre-dispersions added of Shea Butter. All formulations developed were physicochemically characterized and subjected to stability tests. The zeta potential and average particle size was measured using a Zetasizer 3000 HSA. Using a photoacoustic spectrophotometer, were analyzed the ability of UV light absorption of the sunscreens developed. The photocatalytic study suggested that the coating inorganic filters represents the best alternative to inhibit the photocatalytic activity of these particles. Glycolic and lactic acids showed incompatibilities only with ZnO . In photoacoustic analysis, it was found that the products have an effective UV absorption, as inorganic filter characteristics. The physicochemical characterization and stability analysis propose that the formulation method from a pre-dispersion is most suitable for obtaining a stable and secure sunscreen product. The HAP-based formulations, however, represented an exception, because they were stable regardless of the method of incorporation into the cream base. In summary, the results indicate that, to obtain a safe and effective sunscreen, is extremely important we focus on the formulation criteria, such as ideal choice of components and technical preparation.

Key-words: titanium dioxide, zinc oxide, hydroxyapatite, sunscreen, formulating strategies.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UV - Radiação ultravioleta

UV-VIS - Ultravioleta visível

ZnO- Óxido de zinco

TiO₂- Dióxido de titânio

HAP- Hidroxiapatita

ERO's – Espécies Reativas de Oxigênio

FPS – Fator de Proteção Solar

OH – Hidroxila

AHAs - Alfa-Hidroxiácidos

BHAs – Beta-Hidroxiácidos

O/A - Óleo em Água

A/O – Água em Óleo

pH - Potencial Hidrogeniônico

h – hora

min - minutos

nm – nanômetro

UVA –Ultravioleta A

UVB –Ultravioleta B

UVC - Ultravioleta C

DNA - ácido desoxirribonucléico

g – gravidade

°C – grau Celsius

g – grama(s)

W- Watts

% - Percentual

% (V/V) - Percentual volume / volume

% (P/V) - Percentual peso / volume

M - Molar (moles / litro)

M/V - massa/volume

cm – centímetros

μW.cm² - microwatts

μm - micrômetro(s)

mL - Mililitro(s)

μg.mL⁻¹ – Microgramas por mililitro

q.s.p - Quantidade suficiente para

Abs.- Absorbância

oil free – livre de óleo

NaCl – Cloreto de sódio

Zn²⁺ - íons Zinco

Mg²⁺ - íons Magnésio

Mn²⁺ - íons Manganês

Fe³⁺ - íons Férrico trivalente

Cr³⁺ - íons Cromo trivalente

Ca²⁺ - íons Cálcio

C3 – Carbono posição 3

C18 – Carbono posição 18

Cpd – com pré-dispersão

Spd – sem pré-dispersão

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1 – Filtros inorgânicos e suas concentrações de uso..... | 28 |
| Tabela 2 – Composição das pré-dispersões contendo manteiga de karité..... | 68 |
| Tabela 3 – Composição final do creme base não-iônico..... | 88 |
| Tabela 4 – Composição final das pré-dispersões..... | 90 |
| Tabela 5 – Resultados de potencial zeta e tamanho de partículas em protetores solares com e sem pré-dispersão..... | 95 |
| Tabela 6 - Resultados de valores de pH das formulações contendo Manteiga de karité antes e após estresse térmico..... | 104 |
| Tabela 7 – Valores de potencial zeta e tamanho de partículas das formulações contendo manteiga de karité..... | 105 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|-----|
| Quadro 1 – Classes de tensoativos, co-tensoativos mais utilizados..... | 37 |
| Quadro 2 – Formulação 1 do creme base não iônico..... | 85 |
| Quadro 3 – Formulação 2 do creme base não iônico..... | 86 |
| Quadro 4 – Formulação 3 do creme base não-iônico..... | 87 |
| Quadro 5 – Formulação 4 do creme base não-iônico..... | 87 |
| Quadro 6 – Caracterização físico-química dos fotoprotetores com e sem pré-dispersão..... | 93 |
| Quadro 7 – Produtos cosméticos/dermatológicos disponíveis no mercado contendo ácidos orgânicos e filtros solares..... | 100 |
| Quadro 8 – Caracterização das formulações de protetores solares à base de ZnO e TiO ₂ contendo manteiga de karité..... | 102 |
| Quadro 9 – Caracterização das formulações de protetores solares à base de HAP contendo manteiga de karité..... | 103 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Radiação Solar e seus efeitos sobre a pele..... | 25 |
| Figura 2 – Distribuição de partículas de TiO ₂ no organismo..... | 31 |
| Figura 3 – Formação de radicais livres a partir da irradiação de TiO ₂ por UV..... | 32 |
| Figura 4 - Instabilidade de emulsões..... | 45 |
| Figura 5 - Potencial zeta em função da distância..... | 53 |
| Figura 6 - Estabilidade relacionada aos valores de potencial zeta..... | 55 |
| Figura 7 – Esquema das variáveis analisadas no estudo de fotocatalise..... | 64 |
| Figura 8 – Esquema do método de obtenção de cristais..... | 66 |
| Figura 9 – Atividade fotocatalítica do TiO ₂ , ZnO e HAP..... | 75 |
| Figura 10 – Influência do revestimento e tamanho de partícula na atividade fotocatalítica do TiO ₂ | 77 |
| Figura 11 – Influência do tamanho de partícula na atividade fotocatalítica do ZnO..... | 78 |
| Figura 12 – Incompatibilidade do ZnO com alfa-hidroxiácidos..... | 80 |
| Figura 13 – Esquema Reacional da polimerização do ácido lático na presença de ZnO..... | 81 |
| Figura 14 – Atividade fotocatalítica de ZnO com cristais de ácido lático e Glicólico..... | 82 |
| Figura 15 – Esquema das variáveis analisadas no preparo de creme base..... | 84 |
| Figura 16 – Esquema das variáveis analisadas na pré-dispersão contendo ZnO..... | 86 |

| | |
|--|-----|
| Figura 17 – Curvas de distribuição do tamanho de partículas do ZnO em fotoprotetores com e sem pré-dispersão..... | 97 |
| Figura 18 - Microscopia ótica de protetor solar..... | 99 |
| Figura 19 – Espectro fotoacústico de absorção dos filtros inorgânicos ZnO,TiO ₂ alumina, HAP e do creme base..... | 106 |
| Figura 20 - Espectro fotoacústico de absorção dos protetores solares desenvolvidos com pré-dispersão..... | 107 |
| Figura 21 - Espectro fotoacústico de absorção dos protetores solares desenvolvidos com e sem pré-dispersão..... | 108 |
| Figura 22 - Espectro fotoacústico de absorção dos protetores solares contendo ácido glicólico e ácido láctico..... | 110 |
| Figura 23 – Espectro de fotoacústico de absorção dos protetores solares contendo Manteiga de karité em diferentes concentrações..... | 113 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 21 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO | 25 |
| 2.1 FILTROS SOLARES INORGÂNICOS..... | 26 |
| 2.2 TOXICIDADE DE FILTROS INORGÂNICOS | 29 |
| 2.2.1 Atividade fotocatalítica dos filtros inorgânicos | 32 |
| 2.3 FORMULAÇÃO DE FILTROS INORGÂNICOS..... | 34 |
| 2.3.1 Principais veículos | 35 |
| 2.3.1.1 <i>Microemulsões</i> | 36 |
| 2.3.1.2 <i>Nanoemulsões</i> | 37 |
| 2.3.2 Principais ingredientes | 38 |
| 2.3.2.1 <i>Álcoois graxos</i> | 38 |
| 2.3.2.2 <i>Ésteres de ácidos graxos</i> | 39 |
| 2.3.2.3 <i>Ésteres de glicerol com ácidos graxos</i> | 39 |
| 2.3.2.4 <i>Ceras</i> | 39 |
| 2.3.2.5 <i>Tensoativos</i> | 40 |
| 2.3.2.6 <i>Carbômeros</i> | 41 |
| 2.3.2.7 <i>Derivados de celulose</i> | 42 |
| 2.3.2.8 <i>Polissacarídeos</i> | 42 |
| 2.3.2.9 <i>Derivados polivinílicos</i> | 43 |
| 2.3.2.10 <i>Silicones</i> | 43 |
| 2.4 ESTABILIDADE DAS EMULSÕES..... | 44 |
| 2.4.1 Estudo de Estabilidade | 46 |
| 2.5 ESTRATÉGIAS DE FORMULAÇÃO..... | 47 |
| 2.5.1 Controle do tamanho de partícula | 47 |
| 2.5.2 Revestimento de partículas..... | 48 |
| 2.5.3 Métodos de incorporação | 49 |
| 2.5.4 Nanoencapsulamento utilizando materiais lipídicos | 50 |

| | |
|---|-----------|
| 2.6 CARACTERIZAÇÃO DE PROTETORES SOLARES | 51 |
| 2.6.1 Análise do tamanho de partícula..... | 51 |
| 2.6.2 Potencial zeta..... | 52 |
| 2.6.3 Espectroscopia fotoacústica..... | 55 |
| 2.7 APLICAÇÃO DE NOVOS MATERIAIS COMO FILTRO SOLARES INORGÂNICOS: HIDROXIAPATITA | 56 |
| 3 OBJETIVOS..... | 60 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL..... | 60 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 60 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 62 |
| 4.1 REAGENTES..... | 62 |
| 4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS | 62 |
| 4.3 ESTUDO DE FOTOCATÁLISE..... | 63 |
| 4.3.1 Análises dos resultados | 64 |
| 4.4 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DOS FILTROS SOLARES COM ÁCIDOS ORGÂNICOS..... | 65 |
| 4.5 DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO | 66 |
| 4.5.1 Preparo do creme base não-iônico | 66 |
| 4.5.2 Avaliação da influência do método de preparo nas emulsões..... | 67 |
| 4.5.2.1 Preparo de pré-dispersões..... | 67 |
| 4.5.2.2 Método de incorporação da pré-dispersão de filtros inorgânicos ao creme base | 67 |
| 4.5.3 Avaliação dos excipientes que interferem no FPS | 68 |
| 4.5.4 Avaliação de Excipientes que apresentam incompatibilidades com filtros inorgânicos | 68 |
| 4.6 MÉTODO DE INCORPORAÇÃO DOS FILTROS INORGÂNICOS À EMULSÃO SEM A TÉCNICA DA PRÉ-DISPERSÃO..... | 69 |
| 4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS EMULSÕES DE FOTOPROTETORES OBTIDAS..... | 69 |
| 4.7.1 Determinação do valor de pH..... | 69 |
| 4.7.2 Avaliação organoléptica..... | 69 |
| 4.7.3 Análise microscópica | 70 |
| 4.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE | 70 |
| 4.8.1 Teste de centrífuga..... | 70 |

| | |
|---|------------|
| 4.8.2 Teste de estabilidade preliminar | 70 |
| 4.9 DETERMINAÇÃO DE POTENCIAL ZETA E TAMANHO DE PARTÍCULA | 71 |
| 4.10 ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA..... | 71 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 74 |
| 5.1 ESTUDO DE FOTOCATÁLISE..... | 74 |
| 5.2 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DE FILTROS INORGÂNICOS COM ÁCIDOS ORGÂNICOS USADOS EM PRODUTOS COSMÉTICOS..... | 79 |
| 5.2.1 Padronização do método para obtenção de cristais de ZnO com ácido glicólico e ácido láctico | 81 |
| 5.2.1.1 Estudo de fotocatalise com os cristais de ZnO | 82 |
| 5.3 DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO..... | 83 |
| 5.3.1 Influência dos excipientes que interferem na estabilidade..... | 84 |
| 5.3.2 Influência do método de preparo | 90 |
| 5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS PROTETORES SOLARES DESENVOLVIDOS..... | 90 |
| 5.4.1 Avaliação de estabilidade preliminar com pré-dispersão e sem pré-dispersão | 94 |
| 5.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE ATRAVÉS DE POTENCIAL ZETA E TAMANHO DE PARTÍCULA | 94 |
| 5.6 INFLUÊNCIA DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS NA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES DE PROTETORES SOLARES DESENVOLVIDAS | 97 |
| 5.7 INFLUÊNCIA DE EXCIPIENTES QUE INTERFEREM NO FPS..... | 101 |
| 5.8 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES CONTENDO MANTEIGA DE KARITÉ . | 104 |
| 5.9 ESTUDO DE ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA..... | 105 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 112 |
| 7 REFERÊNCIAS | 114 |
| 8 APÊNDICE..... | 124 |

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Os protetores solares são produtos cosméticos usados para proteger a pele contra a radiação solar, e estão entre as melhores medidas fotoprotetoras (GONZALÉZ; LORENTE; CALZADA, 2008). Esses produtos permitem um maior tempo de exposição ao sol, sendo empregados para prevenção do câncer de pele e do envelhecimento cutâneo precoce (WOLF et al., 2001; RAMPAUL; PARKIN; CRAMER, 2007).

Os fotoprotetores contêm filtros solares capazes de diminuir a quantidade de radiação ultravioleta (UV) que atinge a pele humana. Os filtros solares podem ser divididos em “orgânicos” e “inorgânicos”, antes denominados “químicos” e “físicos”, respectivamente, de acordo com a sua capacidade de absorção ou reflexão da radiação (FORESTIER, 2008).

Os filtros orgânicos absorvem a radiação UV e transformam-na em radiações com energias menores e inofensivas ao ser humano (KULLAVANIJAYA; LIM, 2005). Estas moléculas são, essencialmente, compostos aromáticos com grupos carboxílicos. No geral, apresentam um grupo doador de elétrons, como uma amina ou um grupo metoxila na posição *orto* ou *para* do anel aromático (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Os filtros inorgânicos, representados principalmente pelo dióxido de titânio (TiO_2) e óxido de zinco (ZnO), são responsáveis por refletir a radiação emitida a partir de diferentes comprimentos de onda na região do UV. Estes filtros foram previamente classificados como partículas inertes e incapazes de sofrerem absorção percutânea (PALM; O'DONOGHUE, 2007; JAIM, 2010). Sendo assim, alguns autores defendem que os filtros solares inorgânicos representam uma das melhores e mais efetivas estratégias para proteger a pele, devido ao seu baixo potencial de irritabilidade, e recomendam seu uso para as crianças e pessoas com pele sensível (PALM; O'DONOGHUE, 2007; SERPONE; DONDI; ALBINI, 2007; MORE 2007; JAIM, 2010; BURNETT; WANG, 2011).

Em contrapartida, evidências recentes demonstraram que partículas de tamanho reduzido (< 100 nm) podem ser absorvidas através da pele, transportadas aos demais órgãos e causar danos aos rins, fígado, pulmões, baço e outros tecidos (BRAYNER, 2008; WU et al., 2009). Nesse sentido, os danos potenciais da aplicação epidérmica de nanopartículas em filtros solares têm sido alvo de constantes investigações (NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009).

Evidências crescentes sugerem que a toxicidade do TiO_2 não só depende do tamanho de partícula e portanto, da área de superfície, mas também varia com a metamorfose cristalina

que influencia na atividade fotocatalítica, revestimento de superfície e tendência de aglomeração, enfatizando assim que as características físico-químicas são fundamentais para a sua toxicidade (JOHNSTON et al., 2009; HOUGAARD et al., 2010).

O TiO_2 e o ZnO são óxidos metálicos e semicondutores cristalinos que possuem a capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio, sendo sugerido que os óxidos de metais fotoativos podem dar início a eventos deletérios na pele (MITCHNICK; FAIRHURST; PINNELL, 1999). Na presença da luz UV, o TiO_2 é ativado a produzir Espécies Reativas de Oxigênio (ERO's), tais como, radical hidroxila, ânion superóxido e oxigênio singlete (NAKAGAWA et al., 1997; MITCHNICK; FAIRHURST; PINNELL, 1999; FUJISHIMA; RAO; TRYK, 2000).

As partículas de TiO_2 , usadas em alguns protetores solares, são revestidas com materiais inertes, como silicones, possivelmente para diminuir os danos causados pela formação de radicais livres e interações com outros componentes da formulação (GONZALEZ et al., 2007; GONZALÉZ; LORENTE; CALZADA, 2008). No entanto, a maioria dos produtos fotoprotetores comercializados não indica que tipo de TiO_2 é usado em sua formulação (FORESTIER, 2008).

Dados da literatura mostram que o ZnO individualmente, bem como em conjunto com o TiO_2 , é extremamente fotoativo. A presença de ZnO , sob certas condições de radiação UV, pode aumentar a fotorreatividade do TiO_2 e até mesmo produzir radicais livres por conta própria (RAMPAUL; PARKIN; CRAMER, 2007).

Os protetores solares fotoinstáveis quando expostos à luz ultravioleta emitem elétrons, que por sua vez, induzem a formação de peróxidos e radicais livres. Essas espécies podem oxidar e degradar outros ingredientes na formulação, comprometendo a segurança do produto (GONZALEZ et al., 2007).

A importância da proteção contra radiação solar é cada vez mais evidente. Junto com o apelo da fotoproteção cresce também o uso de cosméticos que buscam minimizar os efeitos causados pelo sol, como envelhecimento cutâneo, manchas, espessamento da pele, entre outros. Com intuito de promover tratamento e proteção ao mesmo tempo, as indústrias cosméticas estão revolucionando o mercado de beleza com produtos multifuncionais de ampla atuação. A associação de ácidos orgânicos, que ajudam a recuperar a pele dos danos do sol, e filtro solar tem sido amplamente empregada pela indústria cosmética atual. (AVON, 2011; DERMAGE, 2011; LA ROCHE POSAY, 2011; THERASKIN, 2011; VALEANT, 2011; VICHY, 2011). Com a tendência de aliar vários produtos em um só e oferecer um cosmético diferenciado, o qual solucionaria mais de uma necessidade do consumidor, também surgiram

preocupações com o possível aumento de sensibilidade à radiação ultravioleta após o uso de produtos de cuidados da pele contendo ácidos orgânicos e filtro solar inorgânico, bem como a possível interferência desta associação na formulação final (KORNHAUSER et al., 2009) podendo comprometer assim, a eficácia do produto.

Há atualmente 17 filtros solares aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) (SAMBANDAN; RATNER, 2011). Dentre estes, apenas dois inorgânicos, TiO_2 e ZnO , que são considerados como não sensibilizantes e, provavelmente por esse motivo, são amplamente utilizados. Todavia, as controvérsias acerca da segurança desses filtros têm gerado incansáveis debates.

Neste contexto, o segmento tem exigido pesquisas e desenvolvimento de novos filtros solares que possam ser usados em formulações de fotoprotetores, oferecendo preparações com maior eficiência de proteção e estabilidade físico-química.

A hidroxiapatita (HAP) é um dos principais biomateriais cerâmicos utilizados para substituição óssea devido a sua excelente biocompatibilidade, ausência de toxicidade e similaridade com a composição química da fase mineral dos tecidos calcificados e, nos últimos anos, têm-se dado atenção às suas propriedades ópticas, de absorção e espalhamento da radiação solar na faixa do UV, tornando este material um promissor substituto aos filtros inorgânicos atualmente utilizados. (ARAÚJO; SOUZA, 2008; BATISTA, 2010).

Também a combinação racional de substâncias contendo ésteres de cinamato, conhecidos por apresentarem capacidade de absorção de luz UV, com filtros solares inorgânicos tem demonstrado efeito sinérgico na absorção UV (NAHM, 2011) por mecanismos ainda não bem compreendidos e relatados (FREITAS et al., 2005).

A ideia de utilizar novos materiais como filtros inorgânicos ou incorporar substâncias fotoprotetoras, busca diminuir as características fotorreativas dos filtros, bem como promover atenuação dos raios UV visando à segurança e eficácia dos protetores solares.

A eficácia de um fotoprotetor não depende apenas dos tipos e quantidades de filtros solares envolvidos, mas sim das características do produto final. Com base nessa premissa, é de fundamental importância a seleção adequada de todos componentes da formulação, pois as propriedades finais esperadas para um protetor solar são dependentes de várias características químicas e físicas dos compostos que o constituem. Assim, uma formulação bem elaborada colabora para a estabilidade e eficácia do filtro inorgânico incorporado.

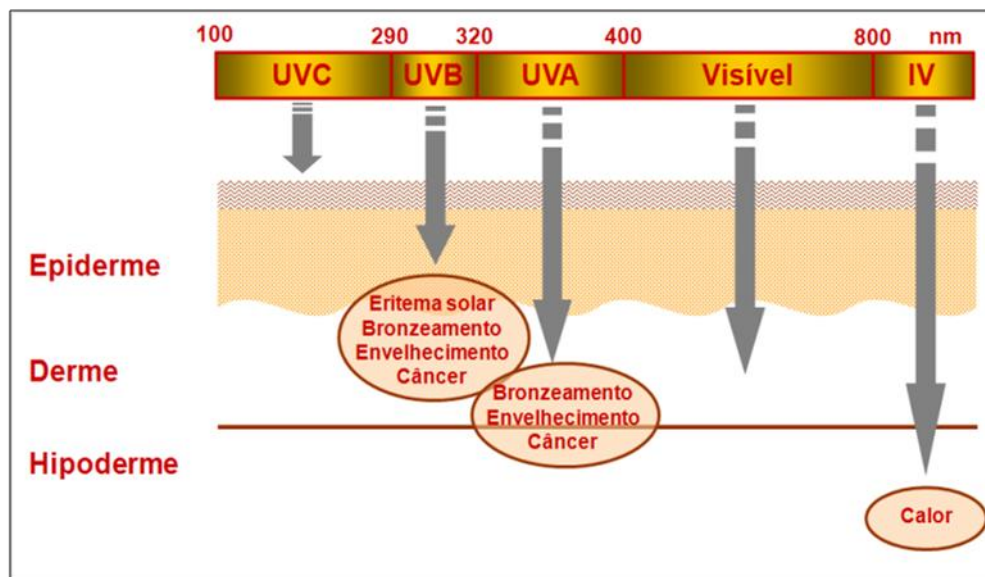
REFERENCIAL TEÓRICO

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A energia da radiação eletromagnética aumenta com a redução do comprimento de onda. Assim a radiação UV é a de menor comprimento de onda e, conseqüentemente, a mais energética, ou seja, a mais propensa a induzir reações fotoquímicas. Por esta razão, as radiações UV são as mais preocupantes quando se pensa em fotoproteção (BATISTA, 2010).

A radiação UV emitida pelo sol pode ser dividida em três faixas: UVC (200-290 nm), UVB (290-320 nm), e UVA (320-400 nm) (FISCHER; SOUZA, 2004; FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; SOUZA; SGARBI; CARMO; ROSA, 2007) (Figura 1).

Figura 1 - Radiação solar e seus efeitos sobre a pele.



Fonte: Adaptado de RIBEIRO, 2010.

A radiação UVC é totalmente absorvida pelo ozônio atmosférico, ou seja, não atinge a superfície da Terra (SOUZA; FISCHER; SOUZA, 2004). Assim, a radiação UV de importância para a saúde humana consiste dos raios UVA e UVB (KULLAVANIJAYA; LIM, 2005).

A radiação UVB é predominante na superfície terrestre no período entre 10 e 14 horas. Possui alta energia e, com grande frequência, ocasiona queimaduras solares. Estas queimaduras aparecem de 3 a 4 horas após a exposição e se intensificam de 12 a 24 horas. São acompanhadas por edemas, dores, prurido, pela formação de bolhas e espessamento da pele (KULLAVANIJAYA; LIM, 2005).

A radiação UVB também é responsável pela transformação do ergosterol epidérmico em vitamina D, indução ao bronzeamento e causa o envelhecimento precoce das células com alterações que induzem ao câncer cutâneo (SOUZA; FISCHER; SOUZA, 2004; FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

A radiação UVA possui uma energia mais baixa que UVB. Porém é a radiação mais abundante na superfície terrestre (95%) e de maior penetração na pele. Os raios UVA, por serem mais penetrantes, são responsáveis pelo “bronzeado” (SGARBI; CARMO; ROSA, 2007) e exercem efeitos indiretos sobre o DNA (ácido desoxirribonucleico) via produção de ERO's. As ERO's podem causar envelhecimento precoce ou fotoenvelhecimento, desempenhando um papel importante na patogênese do melanoma, uma vez que se apresentam como principais responsáveis pelo dano solar causado a longo prazo (SIQUEIRA, 2008).

A radiação UVA é capaz de ativar agentes fotossensibilizantes endógenos (porfirina, riboflavina e quinonas), produzindo radicais livres de oxigênio (ação direta no tecido conjuntivo). Não é absorvida diretamente por alvos biológicos, mas altera drasticamente a função celular (SGARBI; CARMO; ROSA, 2007; GONTIJO; PUGLIESI; ARAÚJO, 2009): (1) Através de sua ação sobre as membranas celulares; (2) danificam a mitocôndria, prejudicando a produção de energia; (3) interagem com as moléculas de proteína, danificando sistemas metabólicos cruciais, e (4) fragmentam o DNA, provocando mutações variadas e, muitas vezes, divisões celulares descontroladas (CHOW, 2002). Logo, a exposição à radiação UV parece ser o fator ambiental mais importante no surgimento do câncer de pele (EL-BOURY et al., 2007).

O propósito desta revisão é abordar de maneira integrada as questões debatidas acerca dos aspectos referentes à segurança, eficácia e desempenho dos filtros solares inorgânicos, agrupando as evidências disponíveis na literatura, fornecendo análises relevantes em torno desses fatos, bem como apresentando as estratégias avançadas sobre formulação de protetores solares à base de filtros inorgânicos.

2.1 FILTROS SOLARES INORGÂNICOS

Os filtros solares inorgânicos são representados por materiais minerais como caulim, sulfato de bário, mica e óxido de ferro, talco, calamina, mas principalmente por dois óxidos: ZnO e TiO₂. Esses funcionam ao refletir e difundir raios ultravioletas que atingem a pele, em

vez de envolver um processo de absorção da radiação emitida a partir dos diferentes comprimentos de onda, como fazem os filtros solares orgânicos (FORESTIER, 2008).

Os filtros inorgânicos possuem uma capacidade reconhecida de bloquear as radiações solares UVA e UVB, criando uma barreira para a passagem da radiação, ou seja, eles funcionam como refletores, e representam uma forma segura e eficaz para proteger a pele. Esses compostos são geralmente julgados mais seguros do que suas contrapartes orgânicas, sendo comumente considerados atóxicos e estáveis. São, por esse motivo, indicados para pacientes com histórico de alergias, pois na condição de partículas inertes, não quebram suas moléculas ao longo do tempo (PALM; O'DONOGHUE, 2007; JAIM, 2010). Em particular, ZnO e TiO₂ estão na lista de ingredientes ativos seguros para uso em protetores solares, pois apresentam um baixo potencial de irritação, sendo inclusive, os filtros solares recomendados no preparo de fotoprotetores para uso infantil e pessoas com pele sensível (PALM; O'DONOGHUE, 2007).

O tamanho das partículas dos filtros inorgânicos interfere no poder de reflexão, dispersão ou absorção da radiação UV. Para haver reflexão, são necessárias partículas grandes que variam de 100 a 500 nm, que apresentam eficácia satisfatória. Mas por serem excessivamente opacas, não têm uma boa aceitação pelo usuário, pois possuem textura pastosa e deixam a pele com aspecto esbranquiçado. Neste contexto, parâmetros sensoriais tornaram-se cada vez mais importantes para a aprovação de um protetor solar (REETH, 2005).

Com o intuito de contornar o problema estético do ZnO e TiO₂, a inovação tecnológica nos anos 90 desenvolveu versões micronizadas desses óxidos, onde as partículas são reduzidas durante o processo de obtenção a dimensões tais que não absorvam nem espalhem radiação visível, mas absorvam e espalhem a radiação UV (NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009). As versões micronizadas representam um grande avanço, uma vez que não deixam película perceptível sobre a pele. Assim o tamanho médio da partícula é de 10-50 nm, tendo 50-90% de redução do tamanho da partícula original (GONTIJO; PUGLIESI; ARAÚJO, 2009; NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009), constituindo cosmeticamente uma excelente opção para formulações de protetores solares, pelo fato de não refletirem no espectro visível, o que confere maior transparência ao produto final e de certa forma, maior aceitabilidade (GONZALÉZ; LORENTE; CALZADA, 2008).

A diminuição no tamanho das partículas melhorou o apelo estético dos óxidos metálicos, permitindo formulações de produtos personalizados que atendem aos desejos específicos dos consumidores. Usando partículas micronizadas de filtros inorgânicos em

cosméticos geram-se produtos com uma melhor textura e mais transparente, uma vez que não refletem no espectro visível (NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009).

É preciso ter cuidado na formulação com partículas micronizadas de filtros inorgânicos, pois, quanto menor seu tamanho, mais susceptível ao processo de aglomeração, em que as partículas pequenas perdem propriedades dispersivas, diminuindo assim seu fator de proteção solar (FPS) (TANNER, 2006; GONTIJO; PUGLIESI; ARAÚJO, 2009; NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009; RIGANO; GAZZANIGA; RASTRELLI, 2010).

Nesse sentido, o revestimento de partículas de filtros inorgânicos é uma estratégia bastante utilizada para reduzir o potencial de agregação destas, o que, conseqüentemente, interfere positivamente na estabilidade física do produto, facilidade de incorporação e sensorial mais agradável. Os revestimentos geralmente são à base de sílica, alumina e dimeticona, que estabilizam as moléculas dos filtros solares e assim criam uma suspensão estável (GONZALÉZ; LORENTE; CALZADA, 2008; SCHILLING et al., 2010; BIC, 2011).

As concentrações de uso dos filtros inorgânicos permitidos no Brasil estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Filtros inorgânicos e suas concentrações de uso no Brasil aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

| Substâncias | Conc. de Uso (%) |
|--------------------------|-------------------------|
| Óxido de Zinco | 5-25% |
| Dióxido de Titânio | 5-25% |
| Subcarbonato de bismuto | 5-10% |
| Subgalato de bismuto | 5-10% |
| Subsalicilato de bismuto | 5-10% |
| Estearato de magnésio | 10-20% |
| Talco | 10-20% |

Fonte: BRASIL, 2006.

2.1.1 Dióxido de Titânio

O dióxido de titânio ou titânia é um óxido metálico inorgânico extremamente versátil por possuir propriedades interessantes, como sua dureza acima da média dos materiais comuns, alto índice de refração à luz visível, baixa reatividade química e sua semicondutância fotossensível. É um pigmento branco e brilhante muito utilizado em tintas brancas, papéis,

plásticos e cremes dentais, devido à sua estabilidade química e mecânica. Possui três estruturas cristalinas: rutilo (termodinamicamente mais estável), anatásio e brookita (FILHO, 2007; UNICHEM, 2011). A forma rutilo apresenta maior eficácia na proteção contra os raios UV (SILVA; MAGALHÃES; SANSIVIERO, 2010). Quando dividido em partículas nanométricas, o TiO_2 torna-se transparente à luz visível, mas mantém suas propriedades de espalhamento e reflexão de raios UV, por isso é largamente utilizado em protetores solares (FILHO, 2007).

2.1.2 Óxido de Zinco

O óxido de zinco é um óxido metálico amplamente utilizado na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética. Na indústria farmacêutica é empregado em aplicações dermatológicas, em unguentos e loções devido a sua ação protetora, adstringente e ausência de toxicidade. Consiste em um pigmento branco, altamente opaco e com grande poder de reflexão da luz, o que justifica sua aplicação como agente protetor solar (COLEMAN; JAGADISH, 2006, UNICHEM, 2011;).

2.2 TOXICIDADE DE FILTROS INORGÂNICOS

A fotooxidação do produto na superfície da pele, causada pela incidência de radiação ultravioleta, produz radicais livres e leva o filtro solar a sofrer modificações químicas, sendo uma das causas de toxicidade e alterações no FPS do produto. Assim, a instabilidade fotoquímica representa um problema significativo apresentado pelos protetores solares (HOJEROVÁ; MEDOVČÍKOVÁE; MIKULA, 2011).

Os efeitos toxicológicos de partículas micronizadas de filtros inorgânicos ainda são pouco compreendidos, embora o conhecimento em algumas áreas, principalmente inflamação e translocação de partículas, tenha apresentado avanços significativos (HOUGAARD et al., 2010). Evidências crescentes sugerem que a toxicidade do TiO_2 não só depende do tamanho, mas também varia com a metamorfose cristalina, a forma de partículas e revestimento de superfície. Recentemente, isto tem levantado algumas preocupações, porque as micropartículas destes ativos são fotorreativas e produzem ERO's, que podem causar estresse oxidativo nos tecidos ou danos ao DNA (NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009). O ZnO micronizado também pode sofrer as mesmas reações fotoquímicas levando ao

comprometimento de sua eficácia, desencadeando alterações na homeostasia celular (GONZALÉZ; LORENTE; CALZADA, 2008).

A grande preocupação e o motivo de vários estudos justificam-se em virtude da possível penetração destas partículas micronizadas na pele, onde a difusão através do estrato córneo é normalmente um fator limitante para a taxa de absorção percutânea (GAMER; LEIBOLD; RAVENZWAAY, 2006).

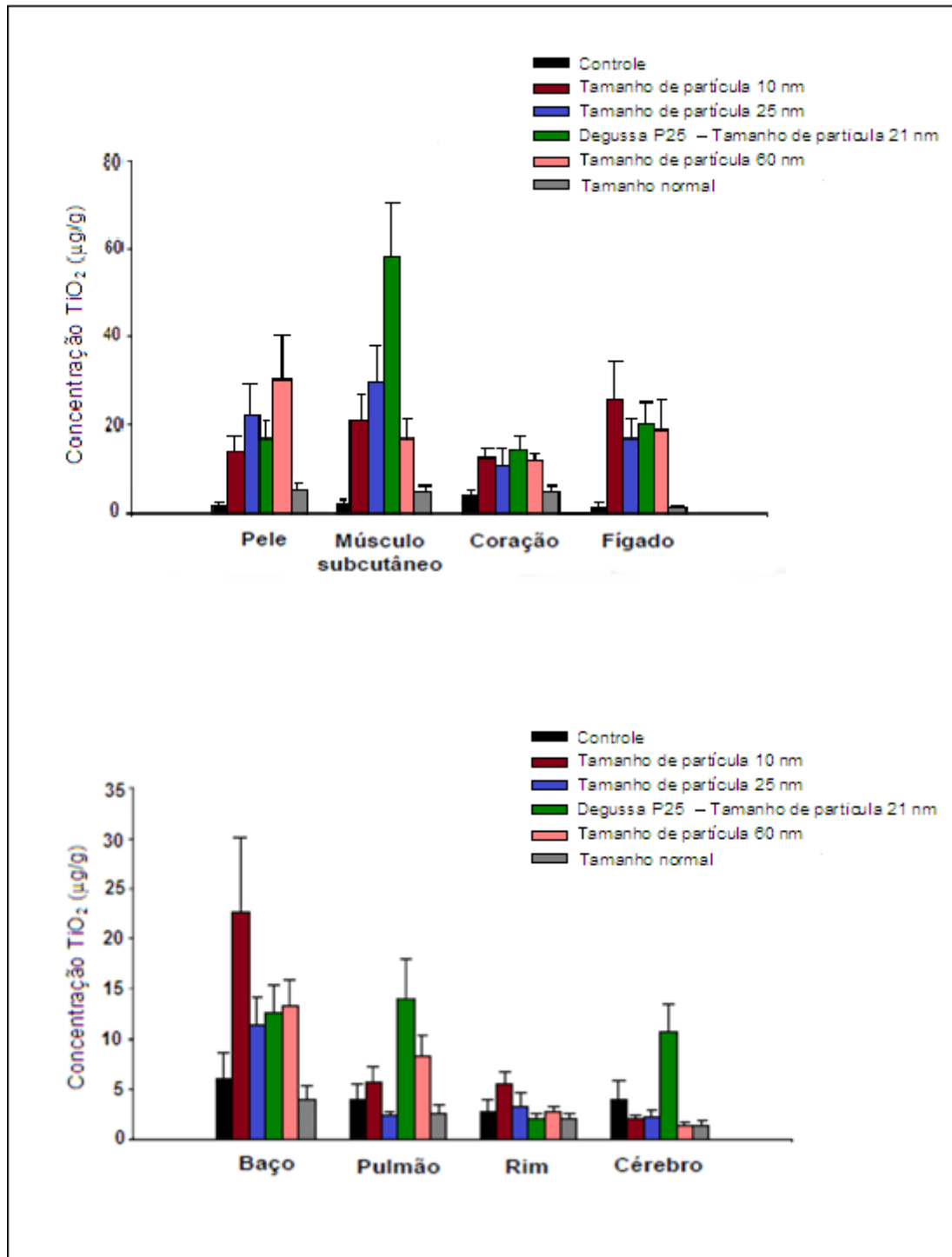
Admite-se que as micropartículas dos filtros inorgânicos apresentam propriedades químicas, mecânicas, elétricas e ópticas diferentes das dos seus homólogos maiores (BURNETT; WANG, 2011).

Alguns estudos mostram que micropartículas de TiO_2 ou de ZnO não penetram através do estrato córneo, visto que são grandes demais para um transporte passivo através da pele. Portanto, uma absorção dérmica seria improvável, pois suas propriedades de micropartículas nos sistemas biológicos não são necessariamente diferentes das partículas maiores (GAMER; LEIBOLD; RAVENZWAAY, 2006; NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009; BARNARD, 2010; SCHILLING et al., 2010). No entanto, outros estudos mostram que há sim uma considerável penetração destas partículas inclusive com distribuição significativa no organismo, o que reflete a necessidade de estudos continuados e aprofundados sobre o assunto (WU et al., 2009; HOUGAARD et al., 2010).

A depuração de partículas de TiO_2 por células fagocíticas tem sido um foco particular de estudos, devido a capacidade dessas em remover as partículas dos locais de exposição, circulação ou locais-alvo secundários. Células não fagocitárias também têm a propensão de internalizar partículas, tais ações podem aumentar a toxicidade do TiO_2 , devido à interferência na fisiologia e função celular normal. Os danos à pele podem comprometer a principal função do órgão que é atuar como uma barreira a vírus, bactérias e substâncias químicas nocivas. Além disso, alterações celulares significativas em si podem ativar vias de câncer (ARAÚJO; LIMA, 2007; RAMPAL; PARKIN; CRAMER, 2007; JOHNSTON et al., 2009)

A Figura 2 mostra resultados obtidos por Wu et al.(2009), em estudo que avaliou a taxa de absorção e distribuição de partículas de TiO_2 no organismo após aplicação tópica em camundongos sem pelo. Pode-se notar que as micropartículas penetraram na pele e se acumularam em diversos órgãos e tecidos, principalmente baço, fígado e músculo subcutâneo, sendo encontrados vestígios insignificantes destas micropartículas no cérebro e rins. O tamanho das partículas de TiO_2 utilizadas neste estudo foram de 10, 25 e 60 nm, Degussa P25 (21 nm) e de tamanho normal 90 nm.

Figura 2 – Distribuição de partículas de TiO₂ no organismo após aplicação subcrônica tópica (60 dias) em camundongos sem pêlo. Formulação: 5% TiO₂ em emulsão. Dose: 8 mg/cm². Quantificação: espectroscopia de absorção atômica e microscopia eletrônica de transmissão (*n* = 6).



Fonte: Retirado e adaptado de WU, 2009.

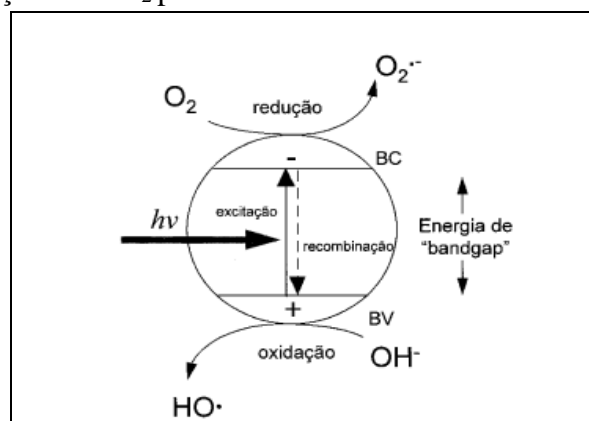
2.2.1 Atividade fotocatalítica dos filtros inorgânicos

Um fotocatalisador é um material que, ao ser sensibilizado pela luz ou alguma outra radiação eletromagnética, acelera processos de transformações moleculares (FILHO, 2007). A molécula ativada pode interagir com outros ingredientes contidos no produto, oxigênio do ambiente ou biomoléculas da pele (proteínas celulares, lipídeos) e, portanto, levar à produção de espécies reativas indesejáveis (FORESTIER, 2008).

O ZnO e TiO₂ são filtros inorgânicos que pertencem à classe dos óxidos metálicos e, assim são semicondutores que na presença de luz solar ou artificial, são ativados a produzir ERO's, tais como os radicais livres ânion superóxido (O₂^{•-}), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o radical hidroxil (HO[•]) e o oxigênio singlete (¹O₂), de modo que podem levar à destruição das membranas biológicas (RAMPAUL; PARKIN; CRAMER, 2007; SERPONE; DONDI; ALBINI, 2007; NAKAGAWA et al., 1997; WOLF, 2001). A forma anatásio do TiO₂ é aquela que apresenta maior atividade fotocatalítica (FILHO, 2007; SILVA; MAGALHÃES; SANSIVIERO, 2010; UNICHEM, 2011). A capacidade fotocatalítica do TiO₂ é muito interessante porque sua superfície, em ambientes com alto grau de umidade relativa ou em meio aquoso, possui uma quantidade considerável de grupos hidroxila (HOFFMAN, 1995).

Ao absorver energia eletromagnética, o TiO₂ tem seus elétrons promovidos da banda de valência à banda de condução (HOFFMAN, 2007; SIVALINGAM, 2003), como ilustrado na Figura 3.

Figura 3 - Representação esquemática de algumas possibilidades de formação de radicais livres a partir da irradiação de TiO₂ por UV.



Fonte: NOGUEIRA et al, 1998.

Essa transição gera um buraco positivo (h^+) na banda de valência. Este buraco h^+ induz

ao sequestro de um elétron da hidroxila, formando o radical hidroxila (HO^\bullet). Este radical, por sua vez, sequestra um elétron de uma molécula eletrodadora, que pode sofrer cisão em fragmentos cada vez menores até recombinar-se com uma espécie eletroativa. De modo semelhante o elétron da banda condutora também induz a formação de radicais, como o radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), reagindo com o O_2 do meio, por exemplo. Este radical pode transferir um elétron excedente a moléculas eletrorreceptoras, que também sofrem cisões, até que esse elétron excedente seja recebido por uma espécie eletrodeficiente (RAJESHWAR; TACCONI; CHENTHAMARAKSHAN, 2001; SIVALINGAM et al., 2003; FILHO, 2007).

O radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) apesar de ser considerado pouco reativo em soluções aquosas, tem sido observado em lesões biológicas secundária a sistemas geradores de radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) (seja enzimático, fagocítico ou químico) (KEHRER; ROBERTSON; SMITH, 2010).

O ZnO, por sua vez, é um material semicondutor que há muito tempo vem atraindo atenção por sua potente ação fotocatalítica. Assim como o TiO_2 , é capaz de eliminar poluentes da água por degradação da matéria orgânica, sendo que a formação de radical hidroxila é fundamental para a ação fotocatalítica do ZnO (JING et al., 2001).

Danos ao DNA produzidos por radicais livres, mediados por filtros solares inorgânicos, tem sido observado desde 1997. Ao realizar estudos *in vitro*, Dunford et al (1997) demonstraram que todas as amostras analisadas de TiO_2 e ZnO extraídas diretamente de protetores solares, quando iluminados com radiação UV, causaram rupturas na dupla fita de DNA tanto em plasmídios como em fibroblastos humanos por meio da formação de ERO's.

Desde então, inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de esclarecer os possíveis efeitos nocivos às células humanas mediados por reações fotocatalíticas destes produtos de proteção solar em contato com radiação UV. Em 2004, Hirakawa et al., verificaram em ensaios *in vitro*, que partículas de TiO_2 , principalmente a forma anatásio, quando irradiadas com luz UV podem causar danos ao DNA celular agindo de maneira não específica em diferentes sítios nucleotídicos via geração de radicais hidroxila livres, bem como agir em sítios-alvos específicos no DNA ao induzir a produção de peróxido de hidrogênio (HIRAKAWA et al., 2004; NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009).

Rampaul e colaboradores (2007), avaliaram os efeitos nocivos de partículas de TiO_2 nas formas cristalina e revestida, irradiadas com luz UVA sobre cultura de células epiteliais humanas e animais. Para verificar o desencadeamento de qualquer dano celular induzido por partículas de TiO_2 ativadas por radiação UVA, os autores analisaram dois efeitos distintos:

apoptose celular e ativação das vias de deterioração do DNA. Foi relatado que, nas culturas de células do epitélio humano e animal tratadas com diferentes formas de TiO_2 ativadas por radiação UVA, algumas foram capazes de induzir o dobro de apoptose celular que a observada quando as linhagens celulares foram expostas apenas à radiação UVA, sendo a mistura das formas anatásio e rutilo, revestidas com sílica, a mais danosa. Por outro lado, ao que tudo indica, a forma rutilo revestida com alumina ou acrescida de um dopante (Mn, nesse caso), parece ter efeito protetor contra a apoptose celular. O mesmo foi observado em culturas celulares de outros animais. Em relação a danos causados ao DNA celular, na ausência de luz UVA, todas as formas de TiO_2 são inertes e não danosas aos nucleotídeos. Porém, quando tratadas com radiação UVA, as formas rutilo e anatásio, revestidas com dimeticona e organossilano, são capazes de ativar cerca de cinco vezes mais as vias de dano ao DNA do que a radiação UVA por si só.

De fato, o potencial de dano celular desencadeado pela marcante atividade fotocatalítica do TiO_2 , como tem sido demonstrado em vários estudos, despertou o interesse de pesquisadores para a avaliação de uma possível capacidade de destruição de células tumorais via ativação de ERO's intermediada pelo TiO_2 . Assim, Zhang & Sun (2004) realizaram um estudo *in vitro* com o objetivo de investigar o efeito fotocatalítico de micropartículas de TiO_2 sobre linhagens celulares de carcinoma de cólon humano (Ls-174-t). Os autores observaram que o efeito letal era mínimo quando as células carcinômicas foram expostas à irradiação UVA sem a presença de TiO_2 . Todavia, uma vez adicionadas as micropartículas, as células da linhagem Ls-174-t apresentaram uma taxa de apoptose muito maior. Na presença de $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de TiO_2 , 44% das células foram mortas após 10 minutos sob irradiação UVA, e 88% destas foram destruídas após 30 minutos em presença da mesma radiação (ZANG; SUN, 2004).

2.3 FORMULAÇÃO DE FILTROS INORGÂNICOS

Para disponibilizar um filtro solar ao consumidor é necessário que o mesmo esteja incorporado a um veículo. À associação filtro solar/veículo denomina-se protetor solar ou fotoprotetor. Algumas características são exigidas para que os protetores solares sejam comercializados. Além de fotoestáveis, devem apresentar características como ser atóxico; não ser sensibilizante, irritante ou mutagênico; não ser volátil; possuir características solúveis apropriadas; não ser absorvido pela pele; não alterar sua cor; não manchar a pele e

vestimentas; ser incolor; ser compatível com a formulação e material de acondicionamento e, ser estável em diferentes condições de armazenamento (GONZALÉZ; LORENTE; CALZADA, 2008).

O desenvolvimento de um sistema eficaz e seguro se inicia com a escolha dos constituintes da formulação. Desta forma, essas matérias-primas devem ser cuidadosamente selecionadas para que seja alcançada uma ótima formulação.

Os formuladores de protetores solares podem escolher entre uma série de formas de apresentação de seus produtos finais como óleos, mousses, aerossóis, pomadas, *sticks* e, principalmente, géis, géis-creme e emulsões.

2.3.1 Principais veículos

As emulsões são os veículos mais utilizados para a formulação de protetores solares devido à sua facilidade de espalhamento sobre a pele. Uma emulsão é um sistema termodinamicamente instável que necessita de energia para sua formação e consiste de ao menos um líquido imiscível (fase interna descontínua) disperso em outro (fase externa contínua) em forma de pequenas gotas (BANKER; RHODES, 2002; AULTON, 2005). Os principais componentes de uma emulsão são lipídios (compostos lipofílicos) e água, a qual se mantém em um estado metaestável pela ação de um emulsionante (BUCHMANN, 2001). Para viabilizar sua utilização como veículo, é necessário que fatores envolvidos no processo de obtenção e na estabilidade do sistema em dispersão sejam criteriosamente estudados (BANKER; RHODES, 2002).

As emulsões água/óleo (A/O), em sua maioria, tornam o produto mais oleoso, fazendo com que este permaneça por mais tempo protegendo o local aplicado; porém, as mais utilizadas nos últimos anos têm sido as emulsões óleo/água (O/A), que possibilitam a incorporação de filtros hidrossolúveis atuando em sinergismo com os filtros lipossolúveis presentes (REETH, 2005; AULTON, 2005; CHORILLI et al., 2007). A maioria das emulsões cosméticas é O/A porque esse tipo permite uma melhor espalhabilidade sobre a pele e também evita oleosidade excessiva. Formas mais sofisticada desses tradicionais sistemas, tais como emulsões múltiplas e microemulsões, têm sido introduzidas para melhorar a aparência física e a eficácia do produto e promover liberação mais eficiente do princípio ativo (BANKER; RHODES, 2002; AULTON, 2005; MAHATO, 2007).

2.3.1.1 Microemulsões

As microemulsões são sistemas transparentes, isotrópicos e termodinamicamente estáveis, compostos por fase oleosa, aquosa, tensoativo e co-tensoativo. Diferem de emulsões por serem sistemas transparentes ou translúcidos, em decorrência do diminuto tamanho das partículas da fase interna (20-150 nm), enquanto que emulsões têm aspecto leitoso e as partículas da fase interna são maiores (KREILGAARD, 2002). As microemulsões requerem adição de pequena quantidade de energia para sua formação. No entanto, estes sistemas necessitam uma grande quantidade de tensoativo e muitas vezes co-tensoativos para sua formação, o que pode gerar irritação cutânea (LAWRENCE; WARISNOICHAROEN, 2006).

Diversos tensoativos, misturas de tensoativos e co-tensoativos podem ser utilizados para a preparação de microemulsões. Misturas de Labrasol[®] (polioxiglicerídeos de ácido cáprico e caprílico) com derivados de Plurol[®] (ésteres de ácido poliglicerílico), álcool graxo ligado ao polietilenoglicol (série Brij[®]) e polissorbatos (série Tween[®]) são exemplos de tensoativos não-iônicos frequentemente utilizados, geralmente misturados a outros tensoativos ou a co-tensoativos. A exceção é o Aerosol OT (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001) um tensoativo iônico capaz de formar microemulsões sem co-tensoativos. O miristato de isopropila é um dos compostos mais usados como fase oleosa. Outros exemplos incluem ácido oléico e mentol, estes com a vantagem de apresentarem atividade como promotor de absorção. (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001; FLORENCE; ATTWOOD, 2003) Óleos como o de canola e de uva, mono e diglicerídios de cadeia curta, média ou longa também podem ser utilizados como fase oleosa. No Quadro 1 estão representados alguns dos componentes mais comumente utilizados na preparação de microemulsões.

Quadro 1 - Classes de tensoativos e combinações de tensoativos, co-tensoativos e óleos mais utilizados para preparação de microemulsões de uso tópico.

| TENSOATIVO | TENSOATIVO OU CO-TENSOATIVO UTILIZADO EM ASSOCIAÇÃO | FASE OLEOSA |
|--|--|--|
| Ésteres de polioxiglicerídios | - | - |
| Labrasol | Plurol® isoestearique (ésteres de ácido graxo e poliglicerol), etanol, transcitol, propilenoglicol | Oleato de etila, isoestearato de estearila, miristato de isopropila, ácido oléico, palmitato de isopropila |
| Chremophor | Trascitol, etanol, poloxamer, propilenoglicol | Miristato de isopropila, ácido oléico |
| Álcoois de polioxiglicerídios | - | - |
| BRIJ | Isopropanol, propanol, butanol, propilenoglicol, monoglicerídios de cadeia média | Óleo de soja, migliol, decanol, óleo de jojoba, monoglicerídios de cadeia média e longa. |
| Ésteres de sorbitano | - | - |
| Polissorbato 20, 40, 80, 85 (Série Tween®) | Etanol, propilenoglicol, sorbitol, poloxamer | Miristato de isopropila, ácido oléico, silicone líquido, oleato de etila, monoglicerídios de cadeia longa |
| Fosfolipídios | - | - |
| Lecitina (de soja ou de ovo) | Propanol, etanol, propilenoglicol, isopropanol, sais biliares, | Triglicerídeos, miristato de isopropila |
| Açúcares | - | - |
| Laurato de sacarose | Propilenoglicol | Miristato de isopropila, octanoato de octila |
| Mono e di-laurato de sacarose | Álcool de cadeia média | octanoato de octila |
| dodecilglicosídios | Cocoamido propilbetaína | Miristato de isopropila |
| Tensoativos iônicos | - | - |
| AOT | Polissorbato | Miristato de isopropila, octanol |

Fonte: próprio autor.

2.3.1.2 Nanoemulsões

Nanoemulsões e microemulsões são geralmente descritas de forma similar, isto é, ambos são sistemas fluidos, compostos de partículas de diâmetro inferior a 200 nm.

Entretanto, nanoemulsões são sistemas cineticamente (e não termodinamicamente) estáveis e necessitam de uma maior quantidade de energia para sua formação, o que é geralmente associado a aumento de custo e necessidade de equipamentos especializados. Por outro lado, estes sistemas requerem menores quantidades de tensoativo, e por isso podem causar menor grau de irritação cutânea (LAWRENCE; WARISNOICHAROEN, 2006).

2.3.2 Principais ingredientes

Atualmente, milhares de ingredientes com diversas classificações e características peculiares são utilizados pela indústria para produção de cosméticos e produtos dermatológicos em todo o mundo. Várias características fundamentais direcionam a seleção de ingredientes a serem inseridos em uma formulação, como o número de átomos de carbono, tamanho da molécula e tipo de radicais orgânicos. As propriedades estruturais dos tipos de substâncias com cadeia carbônica que influenciam o seu uso são: solubilidade, partição em sistemas bifásicos, ponto de fusão, turbidez e solidificação; se apresenta ação emoliente, espessante, emulsionante ou tensoativa; se promove formação de espuma; se altera as características sensoriais ou se apresenta efeito biológico, como ação antimicrobiana e toxicidade, aos usuários de produto cosmético a qual estejam presentes em uma formulação. Desta forma, o conhecimento prévio destas propriedades é essencial para o desenvolvimento, produção e para a disponibilização comercial de qualquer produto cosmético/dermatológico, como protetor solar.

Em seguida, são abordados alguns ingredientes utilizados na formulação de emulsões.

2.3.2.1 Álcoois graxos

São substâncias lipídicas, com pouca solubilidade em água, formadas a partir da redução do grupo ácido da estrutura dos ácidos graxos a grupos hidroxilas. Os compostos desta classe são encontrados em sua maioria na forma de ceras sólidas, e alguns derivados como os álcoois mirístico, cetílico e estearílico são amplamente utilizados na formulação de emulsões. Estes agentes possuem a propriedade de atuar como emolientes, agentes espessantes, estabilizadores de espuma e também como co-tensoativos em sistemas emulsionados. Outro ingrediente amplamente utilizado é constituído por álcoois graxos

etoxilados obtidos pela reação de álcoois cetílico, cetosteárfílico e oleílico de origem natural com óxido de eteno (EO), com diferentes graus de etoxilação. Em função do grau de etoxilação e do álcool de partida, obtêm-se produtos que exibem diferentes graus de lipofilicidade e estados físicos, permitindo assim a escolha de um produto para cada aplicação (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001, MAPRIC, 2010).

2.3.2.2 *Ésteres de ácidos graxos*

São substâncias sintéticas derivados de ácidos graxos de amplo emprego em indústria cosmética. Apresentam propriedades interessantes como componentes de formulações cosméticas, como a capacidade de solubilizar substâncias lipofílicas e de penetrar na pele aplicada (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001, KREILGAARD, 2002). Um representante desta classe de compostos é o hexanodioato de dibutila ou adipato de dibutila, um éster conhecido por Cetiol B[®]. É usado como emoliente para aplicação cosmética, em particular para preparações solares devido à capacidade de solubilizar filtros UV cristalinos (SPECTRUM, 2011).

2.3.2.3 *Ésteres de glicerol com ácidos graxos*

Também denominados de glicerídeos, são produtos de esterificação obtidos a partir de ácidos graxos diversos com o glicerol. Os monoésteres de glicerol, constituídos por citrato, oleato, linoleato ou lactato, entre outros, são agentes emulsionantes, com ação em emulsões óleo/água principalmente, e emolientes. Algumas destas substâncias apresentam ação tensoativa (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001; BANKER; RHODES, 2002). Outro representante desta classe de lipídios bastante utilizado é o estearato de glicerol que possui a capacidade de reduzir a tensão superficial e ser auto-emulsionante. Os triglicérides do ácido cáprico/caprílico são triglicérides de cadeia média de ácidos graxos saturados, altamente refinados e extremamente estáveis, possuindo propriedades singulares de lubrificação e emoliência, além de apresentar toque não oleoso e proporcionar uma sensação sedosa na pele (tipo “oil free”) (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001).

2.3.2.4 *Ceras*

As ceras são lipídeos sólidos bastante utilizados em produtos cosméticos, tendo como

representantes a manteiga de cacau, as ceras de carnaúba, de abelha e a lanolina. A lanolina, material lipídico pastoso extraído da lã de ovelhas, pode ser dividida em óleo e cera de lanolina, e auxilia na formação de emulsões e atua como emoliente para a pele. A manteiga de cacau é um material ceroso formado principalmente por triglicerídeos, empregado como agente de consistência em diversos produtos. A cera de abelhas apresenta diversas aplicações com ação emoliente, suavizante e lubrificante da pele (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001; BANKER; RHODES, 2002).

A manteiga de karité, extraída dos frutos de *Butyrospermum parkii* (G. Don) Kotschy, Sapotaceae, é composta por uma mistura de ácidos graxos (ácido oleico; ácido esteárico; ácido palmítico; ácido linoleico) e por uma fração insaponificável composta por tocoferóis, triterpenos, esteroides e hidrocarbonetos. Rica em ácido cinâmico, a manteiga de karité atua como um filtro solar natural, auxiliando na proteção da pele e dos cabelos contra a radiação UV. Ela ainda pode ser usada para potencializar o efeito de outros filtros. Por conter uma boa quantidade de tocoferóis, a manteiga de karité tem propriedades antioxidantes e é um excelente emoliente, e tal como as gorduras vegetais, exerce uma ação protetora sobre a pele, prevenindo contra o ressecamento. Além dessas propriedades, a manteiga de karité melhora o aspecto e a consistência das emulsões e proporciona um toque aveludado e uma agradável sensação de emoliência à pele (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001; SPECTRUM, 2011; MAPRIC, 2011).

2.3.2.5 *Tensoativos*

Os tensoativos são substâncias de origem natural ou sintética que apresentam estrutura química com porções hidrofílicas e lipofílicas distintas, portanto compostos anfifílicos. Tendem a acumular-se na fronteira entre as fases óleo e água devido à sua estrutura química, diminuindo a tensão interfacial entre essas, facilitando a formação de emulsões, prevenindo assim fenômenos de instabilidade, e conseqüentemente uma possível separação de fases (MAPRIC, 2011).

A interação das fases polar e apolar em uma emulsão é favorecida pela presença de tensoativos na formulação, uma vez que promovem uma redução da energia livre do sistema no qual estão presentes. Os agentes tensoativos foram classificados de acordo com o equilíbrio entre as regiões hidro e lipofílica da molécula. Existem estudos que confirmam a contribuição do uso em conjunto de tensoativos com características de liofilia diferentes para obtenção de emulsões estáveis (AULTON, 2005; MORAIS, 2008).

As propriedades dos tensoativos são características da estrutura química de cada representante, onde se destacam a detergência, a umectância ou molhabilidade, a formação, estabilização, quebra ou supressão de espuma, e a emulsificação. Alguns tensoativos apresentam a propriedade de detergência a qual, quando presentes em solução, refletem na habilidade de interagirem com substâncias sólidas, dispersas ou solubilizadas, dispostas em uma superfície. A aplicação de tensoativos pode levar a inflamação induzida por interação direta da superfície epidérmica com queratinócitos, o que resulta na liberação de citocinas. Além de seu potencial irritante, tensoativos também podem esgotar lipídeos intercelulares do estrato córneo, resultando em desidratação do mesmo. Os diferentes efeitos de tensoativos sobre a pele (inflamação, direta, efeitos citotóxicos e extração de lipídios) podem prejudicar a função de barreira da pele, mas este efeito sobre a permeação cutânea depende do tipo e da concentração dos mesmos (MAHATO, 2007; OTTO; PLESSIS; WIECHERS, 2009).

Os tensoativos podem ser classificados de acordo com sua porção estrutural polar em aniônicos, catiônicos, não-iônicos e anfóteros. Os alquilsulfatos, alquilsulfonatos, as etanolaminas e os sarcosinatos são exemplos de tensoativos aniônicos. Os principais representantes da classe dos tensoativos catiônicos incluem os quaternários de amônio, enquanto que os derivados de imidazolina e as betaínas são os tensoativos anfóteros mais utilizados pela indústria cosmética. Dentro da classe dos não-iônicos, destacam-se os ésteres de sorbitano, os ésteres de glicerol e de sacarose, as etanolaminas de ácido graxo de coco, e os ésteres de polietilenoglicol (ZHANG; SUN, 2004; LAWRENCE; WARISNOICHARON, 2006). Uma classe importante de tensoativos não-iônicos são os polissorbatos, também conhecidos pelo nome de Tween[®], tensoativos derivados dos ésteres de sorbitol e obtidos a partir da reação de esterificação entre ácidos graxos, sorbitol e o óxido de etileno (BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001; MAPRIC, 2011).

2.3.2.6 Carbômeros

Carbômero é um termo utilizado para designar uma série de polímeros (Carbopol[®] 910, 934, 934P, 940, 941, 980 entre outros) formados por monômeros de ácido acrílico e poliésteres de polialquila ou divinilglicol com grande número de ligações cruzadas moleculares, os quais diferem em peso e viscosidade. Estes polímeros iônicos possuem capacidade de espessar e inibir a coalescência da fase oleosa de emulsões, auxiliam na suspensão de sólidos insolúveis em um líquido e no controle da consistência e fluidez de cosméticos e produtos de higiene pessoal. É utilizado também para fabricação de produtos em

gel. Os carbômeros são sensíveis a variações de pH, adquirindo consistência em pH neutro a alcalino (GODDARD; GRUBER, 1999; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001; FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

2.3.2.7 Derivados de celulose

Os polímeros derivados da celulose esterificada são substâncias hidrofílicas, tendo como representantes a metilcelulose, a hidroxietilcelulose (HEC), a hidroxipropilcelulose (HPC), a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e carboximetilcelulose (CMC). (GODDARD; GRUBER, 1999; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001; FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

Quanto maior o comprimento da cadeia polimérica dos derivados de metilcelulose, maior é a viscosidade proporcionada à solução da qual fazem parte. Estes ingredientes são substâncias não iônicas estáveis em faixa de pH de 3,0 a 11,0; solúveis, em sua maioria, em água fria utilizadas na formação de géis, produzidos geralmente em temperatura aproximada de 50 °C. A hidroxietilcelulose, também conhecida como hidroxietiléter de celulose ou Natrosol[®], possui grupos hidroxietila ligados às cadeias de celulose, sendo um dos polímeros mais utilizados para a fabricação de géis (COSMETIC INFO, 2011). A celulose microcristalina é uma substância composta de cristais de dimensões coloidais, dispersível em água, utilizada para a produção de géis e como agente dispersante geralmente em combinação com outros polímeros da celulose (GODDARD; GRUBER, 1999; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001; FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

2.3.2.8 Polissacarídeos

São polímeros formados por cadeias volumosas de sacarídeos ligados entre si. Os principais agentes desta classe de substâncias são o amido, a goma arábica, xantana, adragante e os alginatos. A goma arábica apresenta ação oclusiva, emoliente e adesiva e tem sido utilizada principalmente como agente espessante. É frequentemente combinada a outros polissacarídeos como o amido e a goma adragante. Os alginatos são polímeros lineares de massa molecular elevada, utilizados na forma de sais, que possuem ação suspensionante, com estabilidade em faixa de pH de 5,0 a 9,0 (GODDARD; GRUBER, 1999; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001 ; FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

2.3.2.9 Derivados polivinílicos

Os polivinilálcoois são polímeros hidrofílicos, constituídos por monômeros de vinilálcool. Estes insumos são utilizados para aumentar a espessura da fase oleosa de emulsões e para promover a formação de filme na superfície aplicada. Nesta classe incluem-se a polivinilpirrolidona (PVP) e os polietilenoglicóis (PEG). O PVP é um polímero não-iônico, linear, com alta polaridade, compatível com uma série de resinas e age como estabilizante de emulsões em cremes e loções. Os PEGs são produtos de condensação de óxido de etileno e uma molécula de glicol que apresentam variação de 1 a 185 subunidades monoméricas em sua estrutura química. A maioria dos polímeros PEG são solúveis em água e as propriedades que permitem o seu uso são aumento de consistência, umectância e a habilidade de alguns PEG atuarem como tensoativos não-iônicos (GODDARD; GRUBER, 1999; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001 ; FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

2.3.2.10 Silicones

Os silicones são ingredientes compostos de silício que possuem propriedades de lubrificação, umectação, condicionamento, e formação de filmes finos na superfície aplicada. Estes polímeros apresentam cadeia com flexibilidade molecular acentuada e adquirindo conformações espaciais que favorecem a inserção de diversos grupos substituintes em sua molécula. A partir desta propriedade, é possível obter-se muitos compostos derivados, os quais apresentam diversas funções nas emulsões (O'LENICK, 2000; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001).

Os dimetilsiloxanos, derivados poliméricos do silicone, podem ser divididos de acordo com sua estrutura química em dimeticonas e em dimeticonóis. As principais propriedades destas substâncias envolvem a sua capacidade de serem fluídos transparentes e incolores, o que permite o desenvolvimento de formulação de produtos transparentes, e a baixa tensão superficial, a qual promove espalhamento uniforme e resulta na formação de filmes finos. Outras propriedades relevantes dos dimetilsiloxanos são a permeabilidade a gases, a capacidade de gerar polímero hidrofóbico, resistente a umidade, e, devido a esta característica, a resistência a lavagem por água (O'LENICK, 2000; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001).

Os silicones fenil modificados, como a fenil trimeticona, são substâncias transparentes

derivadas dos dimetilsiloxanos, e diferem destes por apresentar radicais fenilados em sua estrutura química em lugar aos grupos metila. As principais propriedades destes tipos de silicones são o caráter hidrofóbico, o alto índice de refração, que pode resultar em aumento do brilho do produto, a emoliência na pele e cabelos, e a baixa tensão superficial, que promove espalhamento uniforme e formação de filme fino quando em contato com uma superfície. Este tipo de silicone apresenta ainda volume molecular grande e ocorrência de interações intermoleculares reduzida, o que proporciona maior lubrificação no local onde é aplicado (O'LENICK, 2000; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001).

Os silicones do tipo alquil-alcóxi modificados se caracterizam por apresentar estado físico líquido, como a lauril dimeticona, ou pastoso, em forma de cera, como a estearil dimeticona e a estearoxi dimeticona. As principais propriedades deste grupo de silicones são a hidrofobicidade, a capacidade de modificar as características reológicas, o que aumenta a estabilidade do produto, e de causar hidratação por formar barreira oclusiva na pele (O'LENICK, 2000; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001).

As resinas são tipos de silicones que apresentam características de formar filmes resistentes à água e modificar as características reológicas da formulação. Os elastômeros, como o cicllopentasiloxano copolímero cruzado de dimeticona/viniltrimetilsiloxisilicato, são utilizados como gel em dimeticona de secagem rápida ou instantânea. As suas propriedades principais são a capacidade de reduzir a viscosidade dos géis, serem translúcidos e não emulsionáveis, promover o espessamento da fase oleosa das emulsões, proporcionarem resistência a água e aderência aos pós e diluentes em pó (O'LENICK, 2000; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2001).

2.4 ESTABILIDADE DAS EMULSÕES

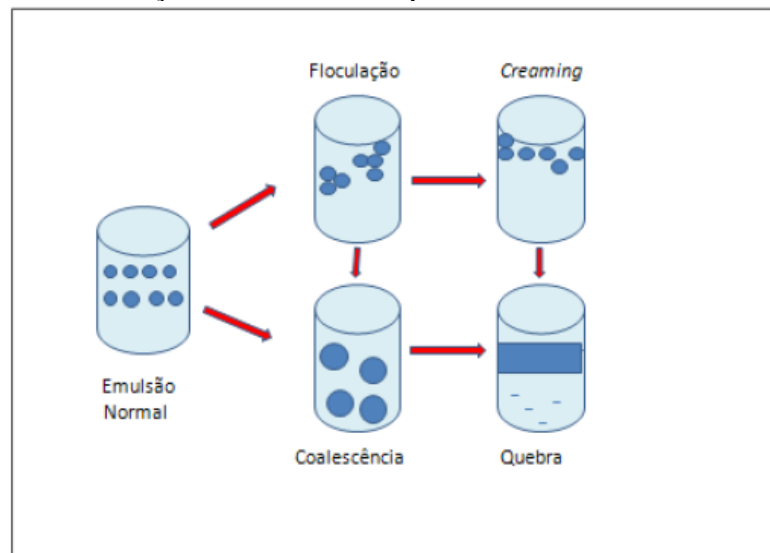
As emulsões são sistemas considerados metaestáveis dada a tendência natural das fases se separarem à medida que as gotas dispersas começam a se fundir (coalescência) (PATRAVALE; MANDAWGADE, 2008). A estabilidade consiste em o sistema reter suas características iniciais, com as gotas dispersas permanecendo uniformemente distribuídas por toda a fase contínua. A estabilidade é controlada pelas propriedades do filme interfacial, formado entre a fase aquosa e oleosa, e pelas características físico-químicas da camada de adsorção formada na superfície dos glóbulos dispersos. Esse filme pode induzir a forças estéricas e eletrostáticas repulsivas entre glóbulos próximos. A adição de tensoativos permite

a formação de uma monocamada adsorvida à interface de uma dupla camada iônica, que pode ser formada ao redor dos glóbulos (CAPEK, 2004).

Uma emulsão é estável quando o sistema retém suas características iniciais e permanecem uniformemente distribuídos por toda a fase contínua. A separação de uma emulsão em seus constituintes é denominada quebra. Qualquer agente que destrua a filme interfacial quebrará a emulsão. Fatores que desestabilizam uma emulsão incluem adição de substâncias incompatíveis com o agente emulsificante, crescimento bacteriano, mudança de temperatura (acima de 70°C) destrói a maioria das emulsões e o congelamento, pois é rompido o filme interfacial que cerca as gotículas. (AULTON, 2005).

As principais etapas do processo de instabilidade observado em emulsões são: floculação, cremação, coalescência e inversão de fases. A floculação envolve a agregação das gotículas dispersas em agregados frouxos dentro da emulsão, uma simples agitação pode reverter o processo. O processo de cremação ou *creaming* consiste na separação das duas fases da emulsão em resposta à ação da gravidade. Coalescência, um processo irreversível onde dois glóbulos se unem tornando-se um único glóbulo. A inversão de fases ocorre quando um sistema O/A inverte para A/O ou vice-versa. (BUCHMANN, 2001; AULTON, 2005; MORAIS, 2008). A Figura 4 mostra as quatro formas de instabilidade das emulsões.

Figura 4 - Sistema de ilustração dos diferentes tipos de instabilidade de emulsões



Fonte: Adaptado de MAHATO, 2007.

Cada componente, ativo ou não, pode afetar a estabilidade de um produto. Variáveis relacionadas à formulação, ao processo de fabricação, ao material de acondicionamento e às

condições ambientais e de transporte também podem influenciar na estabilidade do produto (BRASIL b, 2004).

Os aspectos considerados na estabilidade são físicos, químicos e microbiológicos, pois é necessário garantir que qualquer sistema emulsionante usado seja física e quimicamente compatível com a substância ativa e os demais componentes da emulsão (AULTON 2005; BRASIL a, 2007), e que características microbiológicas sejam mantidas sob controle com uso de agentes conservantes.

2.4.1 Estudo de Estabilidade

O estudo de estabilidade é uma ferramenta para garantir a segurança e eficácia de produtos, fornecendo informações que indicam o grau de estabilidade relativa de um produto nas variadas condições a que possa estar sujeito, desde sua fabricação até o término da sua validade. Essa estabilidade é relativa, pois varia com o tempo e em função de fatores que aceleram ou retardam alterações nos parâmetros do produto (TADROS, 2004).

As alterações podem ser classificadas como extrínsecas, quando determinadas por fatores externos (tempo, temperatura, luz, oxigênio, umidade, material de acondicionamento, micro-organismos, vibração) ou intrínsecos, quando determinadas por fatores inerentes à formulação (incompatibilidade física, incompatibilidade química) (BRASIL, 2004).

As avaliações físico-químicas são importantes para pesquisar alterações na estrutura da formulação, e nem sempre são perceptíveis visualmente. As sugeridas são: valor de pH, viscosidade, teor de água, tamanho de partícula, centrifugação, densidade, granulometria, condutividade elétrica, umidade e teor de ativo (BRASIL, 2004) Quando necessárias diferentes técnicas analíticas podem ser utilizadas na determinação quantitativa dos componentes da formulação, tais como: ensaios de via úmida (metodologias diversas), espectrofotometria no Ultravioleta-Visível (UV-VIS) e infravermelho (IV), cromatografia (camada delgada, gasosa e líquida de alta eficiência), eletroforese capilar, entre outras, cabendo ao formulador avaliar a necessidade e adequação do produto a outra técnica (BRASIL, 2004). O formulador deve avaliar a necessidade e características dos testes a serem realizados bem como interpretação dos dados obtidos durante o estudo de estabilidade.

A compreensão dos processos de instabilidade em uma emulsão em nível molecular está longe de ser alcançado, para o qual é necessário desenvolver métodos de avaliação de cada processo e tentar prever a estabilidade física das emulsões em longo prazo (TADROS, 2004).

Dentre as técnicas convencionais de análise em estudos de estabilidade temos: análises macroscópicas e microscópicas, avaliação organoléptica, centrifugação, potencial hidrogeniônico (pH) e teste de estabilidade preliminar.

Em suma, ao final dos estudos, o produto deverá manter a função específica para o qual é designado. A conservação desta função é essencial para garantir a eficácia e segurança de um produto (ANSEL, 2000).

Quase todos os materiais macroscópicos ou particulados em contato com um líquido adquirem uma carga elétrica em sua superfície. Para prever a estabilidade, o potencial zeta é um indicador importante e útil deste encargo, que pode ser usado para prever e controlar a estabilidade (MALVERN, 2005; LIAO; WU; LIAO, 2009).

O tamanho da partícula e distribuição granulométrica são, também, parâmetros muitas vezes extremamente importantes e que podem ajudar a manter um produto mais estável. Um controle cuidadoso do tamanho das partículas pode reduzir a necessidade de modificações no processo e evitar o retrabalho (JEONG; KIM, 2001; MALVERN, 2005; LIAO; WU; LIAO, 2009).

2.5 ESTRATÉGIAS DE FORMULAÇÃO

As estratégias de formulação podem ser divididas em: controle do tamanho de partícula, revestimento de partículas, métodos de incorporação e nanoencapsulamento por materiais lipídicos.

2.5.1 Controle do tamanho de partícula

Até a década de 1990, os filtros inorgânicos, particularmente o óxido de zinco e o dióxido de titânio, não eram bem aceitos por problemas estéticos e estavam longe de produzirem formulações cosmeticamente atrativas, pois se encontravam disponíveis apenas em pastas grossas coloridas ou brancas, em especial o óxido de zinco (MITCHNICK; FAIRHURST; PINNELL, 1999; PALM; O'DONOGHUE, 2007). Esses possuíam partículas que variavam de 100 - 500 nm, muito eficazes, mas cosmeticamente, por serem excessivamente opacos, não tinham uma boa aceitação pelo usuário (GONTIJO; PUGLIESI; ARAÚJO, 2009; NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009). Parâmetros sensoriais tornaram-se cada vez mais importante para a diferenciação do produto (REETH, 2005).

Oportunamente, no início de 1990, formas micronizadas de ambos os óxidos metálicos foram desenvolvidas, com um tamanho médio de partícula de 10-50 nm, tendo 50-90% de redução do tamanho da partícula original (GONTIJO; PUGLIESI; ARAÚJO, 2009; NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009).

A diminuição no tamanho das partículas, chamadas micronizadas ou ultrafinas, melhorou o apelo estético dos óxidos metálicos, sendo uma excelente opção para as formulações, fazendo o novo produto mais transparente à luz visível, uma vez que não refletem no espectro. No entanto, esta mudança no tamanho também desloca a luz dos espectros de absorção do ZnO e TiO₂ micronizados, parcialmente para fora da região UV e ao invés de bloquear comprimentos de onda mais longos na faixa do visível, a partícula micronizada causa atenuação de comprimentos de onda mais curtos a partir de UVA a UVB (PALM; O'DONOGHUE, 2007). Por esse motivo, desde 1999, quando o FDA permitiu a utilização de nanopartículas em protetores solares, houve uma controvérsia sobre a segurança da sua utilização (NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009).

Quando o tamanho da partícula é menor, sua fotorreatividade aumenta, reforçando a idéia de que as propriedades de superfície dos filtros inorgânicos influenciam diretamente na sua toxicidade (JING et al., 2001).

É preciso ter cuidado na formulação com partículas micronizadas de filtros inorgânicos, pois, quanto menor seu tamanho, mais susceptível será ao processo de aglomeração, em que as partículas pequenas perdem propriedades dispersivas (TANNER, 2006; GONTIJO; PUGLIESI; ARAÚJO, 2009; NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009; RIGANO; GAZZANIGA; RASTRELLI, 2010).

2.5.2 Revestimento de partículas

Partículas de TiO₂ e ZnO revestidas são tipicamente utilizadas em formulações de cosméticos e protetores solares. Esse processo de revestimento modifica todas as propriedades de superfície, inibe ou reduz a geração de ERO's em resposta à ação fotocatalítica ativada pela exposição à luz solar (SCHILLING et al., 2010; SAMBANDAN; RATNER, 2011). O revestimento permanece estável mesmo sob condições de teste exagerado (SCHILLING et al., 2010), mas não se deve eliminar as preocupações sobre a ativação dos filtros inorgânicos micronizados pela ação da luz solar. O revestimento de partículas de óxidos de zinco e titânio com sílica, por exemplo, permite-lhes coexistir em uma suspensão estável em valores de pH que poderiam causar a precipitação das partículas não revestidas (TSUZUKI et al., 2009).

2.5.3 Métodos de incorporação

Devido às dificuldades de formulação de protetores solares à base de filtros inorgânicos, tem-se procurado formas de otimizar a incorporação desses filtros ao veículo utilizado para que resultem em um sistema estável e em um protetor solar de alto FPS.

Sistemas pré-dispersos vêm sendo usados para formular protetores solares com amplo espectro (UVA e UVB) e elevado FPS, permitindo uma formulação de protetores solares inorgânicos com características irritantes muito baixas, e que não exigem o uso de filtros orgânicos. Fornecem, ainda, alta transparência e baixo efeito de branqueamento sobre a pele (ANTARIA, 2010). Estes sistemas consistem de uma dispersão homogênea de micro-partículas de filtros inorgânicos com um revestimento hidrofóbico. Podem ser incorporado aos veículos com excelente estabilidade contra floculação ou decantação. Por exemplo, ZinClear[®]-IM, uma dispersão de ZnO em veículo oleoso, geralmente deve ser usado 2% o que representa 1% de ZnO adicionado, quando incorporado à formulação fornece cerca de 1,5 unidade de FPS, sendo que algumas formulações podem aumentar até 2 unidade de FPS (ANTARIA, 2010).

O fator-chave na produção de um protetor solar com FPS alto usando ZinClear[®]-IM é obter a formulação correta. Em formulações que visam apenas proteção solar inorgânica é necessário usar entre 30-40% de ZinClear[®]-IM (15-20% de ZnO) para resultar em um FPS 30+, dependendo da formulação. Nesta quantidade, se a formulação for adequada, não deve ser observado branqueamento da pele, que é normalmente associado com partículas inorgânicas tais como dióxido de titânio ou outros produtos com óxido de zinco micronizado usados atualmente. Para aperfeiçoar a transparência de ZinClear[®]-IM aconselha-se começar a formulação com um sistema base de emulsão que não vai deixar uma película branca sobre a pele antes da adição de ZinClear[®]-IM. A propriedade transparente de ZinClear[®]-IM em formulações é melhor observada depois que o filme secar sobre a pele. Se houver branqueamento da pele, pode ter ocorrido a escolha e adição inadequada de emulsificante na formulação básica. Pequenas quantidades de silicone podem ajudar a reduzir esse efeito. A escolha do emulsificante também é importante porque formulações não-iônicas de protetores solares são compatíveis com óxido de zinco, mas alguns emulsificantes aniônicos podem causar instabilidade devido às interações com Zn^{2+} . Formulações catiônicas também são compatíveis (ANTARIA, 2010).

Como o ZinClear[®]-M não penetra na pele como alguns filtros UV orgânicos, a

formação de uma espessura consistente sobre os contornos da pele é essencial para uma maior eficiência no FPS. A adição de produtos como o polietileno, cera de abelha, silicone e outros formadores de filme auxiliam na melhoria e desempenho do FPS do protetor solar final. Alguns espessantes e formadores de filme podem resultar em problemas de formulação. A maioria dos ácidos carboxivinílicos (poliacrilatos de sódio) é sensível aos íons de zinco, formando complexos de zinco que perturbam a eficiência dos espessantes. Espessantes não-iônicos, como goma xantana, são geralmente estáveis. Outras espécies que podem reagir com os íons de zinco, tais como o estearato de sódio, devem ser evitados, especialmente em formulações de menor faixa de pH. Foi constatado que NaCl na fase aquosa pode ser usado para estabilizar a emulsão causando menos problemas na formulação. Emulsionantes não-iônicos devem ser utilizados em vez de ácido graxo solúvel em sais e água (ANTARIA, 2010).

2.5.4 Nanoencapsulamento utilizando materiais lipídicos

Recentemente, modernas abordagens, tais como o encapsulamento de nanopartículas, têm permitido o desenvolvimento de protetores solares inorgânicos de alta qualidade. Uma delas é a combinação de TiO₂ com cera de carnaúba extraída das folhas de *Copernicia prunifera* (Mill) H.E. Moore, Arecaceae, a qual contém cinamatos que promovem uma ação sinérgica resultando em uma dispersão estável, de viscosidade ideal, e um aumento significativo no FPS. Além disso, a cera de carnaúba aumenta a proteção contra eritema UVA-induzido (VILLALOBOS; MULLER, 2005, VILLALOBOS; MULLER, 2006a; VILLALOBOS; MULLER, 2006b; VILLALOBOS; MULLER, 2007).

Em 2005, Villalobos e Müller caracterizaram sistemas de veículos para atenuadores de radiação UV como o dióxido de titânio, sulfato de bário e carbonato de estrôncio, baseados em uma matriz composta de cera de carnaúba e oleato de decila, utilizadas como cápsulas ou como veículos de acompanhamento para os pigmentos inorgânicos em dispersões aquosas. A encapsulação de nanocristais inorgânicos carregados pelas matrizes lipídicas aumentou o FPS intrínseco das substâncias inorgânicas testadas, sendo que o dióxido de titânio foi particularmente favorecido por esse processo em virtude da sua capacidade de absorção UV, tendo sido observado um aumento no seu FPS até cerca de 50. As matrizes lipídicas de cera/óleo favoreceram ainda a estabilidade da formulação, em todos os casos por aumentar a viscosidade do sistema (VILLALOBOS; MULLER, 2005).

De acordo com estudos realizados por Villalobos e Müller (2006a), matrizes lipídicas

de cera de carnaúba/oleato de decila com menor carga de filtros inorgânicos são termodinamicamente mais estáveis do que aquelas com maiores quantidades. Inclusive, o tamanho médio de partícula e os índices de polidispersão das nanosuspensões não se alteraram mesmo após estoques de seis meses aos 20 e 40 °C.

A fim de caracterizar os mecanismos da interação sinérgica entre os cinamatos da cera de carnaúba e o dióxido de titânio que promovem um aumento do FPS, Villalobos e Müller (2006b) compararam a absorção UV e o FPS de um extrato etanólico da cera de carnaúba e de uma solução etanólica do cinamato de etil etila, um derivado de cinamato típico, sozinhos e na presença de dióxido de titânio (VILLALOBOS; MULLER, 2006b). As soluções de cinamatos, bem como os cristais de TiO_2 , foram distribuídos em uma matriz composta de ácidos graxos saturados para simular a estrutura da cera de carnaúba cristalizada. Foi observada uma forte absorção UV em suspensões diluídas de dióxido de titânio após a adição de cinamatos, sendo que as matrizes de ácidos graxos saturados provavelmente favoreceram a adsorção do cinamatos na superfície de cristais de dióxido de titânio, o que foi refletido por um aumento no FPS (VILLALOBOS; MULLER, 2006b).

2.6 CARACTERIZAÇÃO DE PROTETORES SOLARES

2.6.1 Análise do tamanho de partícula

Técnicas aperfeiçoadas recentemente são de extrema valia para caracterização *in vitro* da estabilidade e eficácia de protetores solares à base de sistemas emulsionados. Dentre estas técnicas pode-se citar a análise de tamanho de partícula, potencial zeta e espectroscopia fotoacústica.

Tamanho da partícula é uma característica geométrica geralmente atribuída a objetos materiais com tamanhos em escala de nanômetros para milímetros. O tamanho médio das partículas de uma emulsão determina a probabilidade da ocorrência de fenômenos como floculação e coalescência. Geralmente, quanto menor o tamanho das partículas dispersas, maior a estabilidade do sistema (JEONG; KIM, 2001). A ausência de aglomerados é evidência de uma suspensão mais estável, o que é refletido normalmente em uma baixa viscosidade (CERRUTI, 2010).

A intensidade do espalhamento é também dependente do tamanho, diminuindo com o volume da partícula. Se o tamanho das partículas diminui, o ângulo espalhado aumenta

logaritmicamente. Partículas grandes espalham a luz com ângulos pequenos e com alta intensidade, enquanto as pequenas partículas espalham a luz com ângulos maiores e com menor intensidade (KIPPAX, 2005).

As ondas difratadas são espalhadas em diversas direções. A direção da dispersão depende do tamanho e da forma da partícula. As partículas grandes e esféricas espalham geralmente na direção frontal, sendo que com tamanho menor, o espalhamento ocorre com um ângulo maior. O espalhamento é um fenômeno complexo e influenciado pela natureza da luz incidente, propriedades óticas da partícula, rugosidade e superfície (KIPPAX, 2005).

A técnica de espalhamento de luz dinâmico (*Dinamic Light Scattering- DLS*) é utilizada para medir o tamanho de partículas na faixa de nanômetros e micrômetros. O movimento aleatório de pequenas partículas em um fluido, com consequentes choques das moléculas do fluido nas partículas, é conhecido como “Movimento Browniano”. Partículas maiores se movimentam mais lentamente que as menores se a temperatura é a mesma. Quando uma fonte de luz monocromática e coerente como um laser, com frequência conhecida é incidida sobre partículas em movimento, a luz é espalhada, mas em uma frequência diferente. Essa mudança de frequência é chamada de *Efeito Doppler*. Dessa forma, relaciona-se o tamanho das partículas com a mudança na frequência da luz. Devido à maior velocidade média de partículas menores, há uma maior mudança na frequência comparada a partículas maiores e é essa diferença que é usada para caracterizar um histograma de distribuição de tamanho de partículas (MALVERN, 2005; DLS, 2008; MURDOCK, et al., 2008).

2.6.2 Potencial zeta

A carga eletrostática de superfície das partículas é chamada de potencial zeta. O potencial zeta não pode ser medido diretamente, mas através do campo elétrico que se cria em torno da partícula. Assim, usa-se algum tipo de medida indireta, a partir da qual se calcula o potencial zeta. A medida de potencial zeta é útil, simples e rápida na avaliação da estabilidade, indicada para otimização de formulações de suspensões ou emulsões, previsão da estabilidade das formulações e diminuição do tempo necessário para triagem de formulações. (MALVERN, 2005).

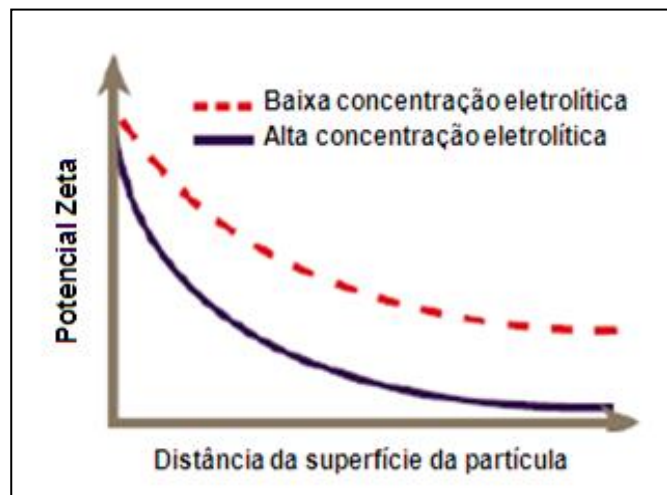
Toda superfície de partícula possui tendência a adsorver cargas elétricas quando imersas em um fluido, pois ocorre uma série de processos que faz com que a interface torne-se eletricamente carregada. Estes processos levam à produção de uma densidade de carga de

superfície, e a fração destas cargas elétricas adsorvidas é medida em função do potencial elétrico que surge na interface (MALVERN, 2005; CAI et al, 2006).

O potencial zeta depende de vários fatores, tais como a composição química da superfície das partículas, a composição do solvente circundante, o valor do pH do ambiente e íons na suspensão (LIAO; WU; LIAO,2009).

O potencial zeta ocorre a uma distância da superfície da partícula. À medida em que aumenta a distância entre as partículas, o potencial zeta decai exponencialmente (Figura 5).

Figura 5 - Aproximação de potencial zeta em função da distância entre a superfície das partículas



Fonte: Adaptado de MALVERN, 2005.

A principal área de aplicação do potencial zeta é na compreensão da estabilidade e dos efeitos de floculação de emulsões e suspensões. O modelo mais simples desses fenômenos surge com a teoria DLVO (*Deryaguin-Landau-Verwey-Overbeek*). Isto indica simplesmente que a estabilidade do coloide é um equilíbrio entre as forças de atração de Van der Waals e da repulsão elétrica, devido à carga de superfície. Se o potencial zeta cai abaixo de certo nível, o coloide irá agregar, devido às forças atrativas. Por outro lado, um potencial zeta alto mantém um sistema estável (CAI et al., 2006).

Portanto, na determinação de resultados de potencial zeta, se o valor obtido for alto, indica que as partículas se repeliram, ou seja, há uma maior estabilidade da dispersão. Já casos de resultados com valores baixos, representam instabilidade na dispersão, visto que as partículas se aproximaram umas das outras até se agregarem. O potencial elétrico, gerado pela dupla camada elétrica, é dado em valores médios positivos ou negativos (em módulo) que

significam maior quantidade de cargas de mesmo sinal sobre a superfície das partículas, o que leva à uma maior repulsão eletrostática entre as mesma e conseqüentemente, maior estabilidade (MALVERN, 2005; MORAIS, 2009).

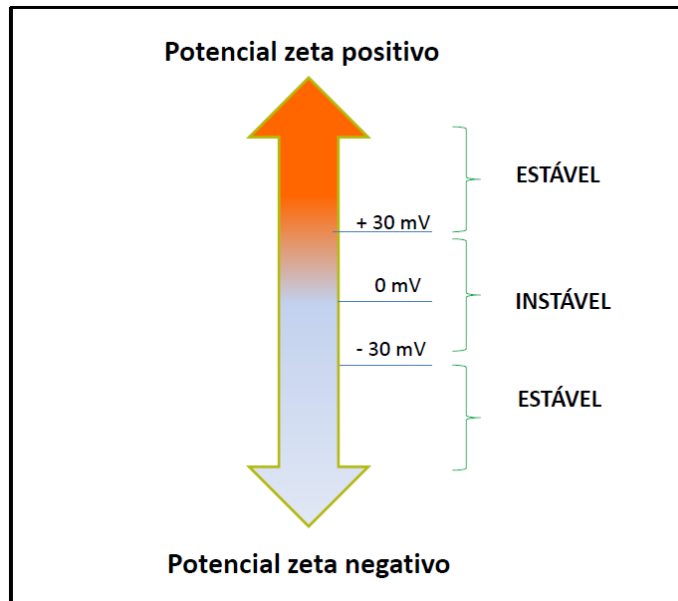
Em outras palavras, a magnitude do potencial zeta dá uma indicação do potencial de estabilidade do sistema coloidal. Todas as partículas de uma emulsão têm uma carga positiva e uma negativa, se elas se repelem não há tendência à floculação; no entanto, se as partículas têm valores baixos de potencial zeta, então não há força para impedir que as partículas se unam e floculem (MORAIS, 2009).

A concentração dos componentes da formulação, a condutividade elétrica e o pH são os fatores que afetam o potencial zeta, mas dentre estes o fator mais importante é o pH. Quanto mais alcalina é a emulsão, mais as partículas tendem a adquirir uma quantidade maior de cargas negativas. Se ácido é adicionado à esta suspensão, um ponto será alcançado onde a carga negativa é neutralizada. Qualquer acréscimo adicional de ácido pode causar um acúmulo de carga positiva. Portanto, um potencial zeta *versus* a curva do pH será positivo em pH baixo e negativo em pH alto (ELAKNESWARAN; NAWA; KURUMISAWA, 2009).

A linha geral do potencial zeta divide-se em: suspensões estáveis e instáveis e é geralmente tomada em cada 30 mV ou -30 mV. Partículas com potencial zeta mais positivo do que 30 mV ou mais negativas que -30 mV são normalmente consideradas estáveis, como representado na Figura 6.

Estudos demonstraram que a emulsão em si, em um pH de 7,0 e baixa concentração de eletrólitos, apresenta um potencial zeta de -40 a -50mV, o que é suficiente para proporcionar adequada estabilidade e uma vida útil de pelo menos 2 anos (MALVERN, 2005).

Figura 6 - Representação esquemática da estabilidade relacionada aos valores de potencial zeta.



Fonte: Adaptado de MALVERN, 2005.

2.6.3 Espectroscopia fotoacústica

A Espectroscopia Fotoacústica, em geral conhecida pela sigla PAS- *Photo Acoustic Spectroscopy* é uma técnica versátil que permite a obtenção de espectros de absorção óptica de sólidos, semi-sólidos, líquidos e gases, possibilitando a análise de amostras tanto opticamente opacas quanto transparentes.

O efeito fotoacústico consiste na geração de uma onda acústica, e pode ser observado quando a luz modulada é absorvida por uma amostra dentro de uma célula fechada contendo gás, podendo ser o próprio ar, e que está acoplada a um microfone. A luz é absorvida e transformada em energia térmica por processos de desexcitação não radioativos. O aquecimento periódico da amostra gera uma onda de pressão no gás em contato com a mesma. Essa variação de pressão é detectada pelo microfone que resulta no sinal fotoacústico, e a intensidade do sinal gerado dependerá da frequência de modulação da luz incidente. Os diferentes mecanismos pelos quais os pulsos de calor produzidos na amostra geram ondas acústicas no gás são: difusão térmica, expansão térmica, flexão térmica e efeito fotobárico.

O modelo padrão de célula fotoacústica, proposto por Rosencwaig e Gersho (modelo RG), consiste de uma pequena célula com gás, com uma amostra sólida colocada dentro dela,

a uma distância l_g de uma janela de vedação transparente. Através da janela incide-se um feixe de luz modulada. Nas paredes laterais da célula é inserido um microfone capacitivo que capta as conseqüentes flutuações de pressão no gás, provocada pela transferência de calor oriundo do aquecimento periódico do sólido.

O que caracteriza a técnica é a obtenção de espectros de absorção óptica gerados pelo sinal fotoacústico devido à interação da matéria com uma radiação modulada de comprimento de onda conhecido. A amplitude e a fase são os principais parâmetros em medidas experimentais com a técnica fotoacústica. A intensidade do sinal depende linearmente da potência luminosa, relacionando-se com o inverso da temperatura no meio, com o inverso do comprimento da coluna de gás, e é proporcional ao perfil de temperatura na interface amostra-gás. A intensidade relaciona-se diretamente com as propriedades de absorção, difusão e profundidade da amostra onde a radiação é absorvida, já que o perfil de temperatura depende da quantidade de radiação transformada em calor.

Na técnica fotoacústica o sinal produzido depende da radiação efetivamente absorvida pela amostra sob estudo, desta forma sua aplicação em fotoprotetores torna-se interessante, pois permite a obtenção do espectro de absorção UV do protetor solar.

2.7 APLICAÇÃO DE NOVOS MATERIAIS COMO FILTRO SOLARES INORGÂNICOS: HIDROXIAPATITA

As controvérsias existentes acerca da eficácia e segurança dos filtros solares têm motivado pesquisas em busca de abordagens que visem melhorar o desempenho dos fotoprotetores. A tendência é a procura por novos materiais que possam ser usados como filtros solares e que sejam adequados e seguros (SAATAH, 2006; ARAÚJO; SOUZA, SOUSA, 2010; SAMBANDAN; RATNER, 2011). Não obstante, uma série de novos agentes têm sido apontada como alternativa ao desenvolvimento de protetores solares (RAI; SRINIVAS, 2007).

Em relação aos filtros inorgânicos, atualmente maior enfoque tem sido dado à hidroxiapatita (HAP), conhecida por fazer parte de um grupo de minerais chamados apatitas. Possui fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (LIMA, 2006; MIYAHARA; GOUVÊA; TOFFOLI, 2007; BATISTA, 2010; LIMA, 2010).

A hidroxiapatita é um composto já presente no corpo humano, sendo o principal componente mineral no tecido ósseo. De fato, 99% do cálcio no corpo humano é armazenado

no tecido ósseo, na forma de hidroxiapatita (RIGANO, 2010). Amplamente utilizada como material ortopédico e dental, devido à sua alta estabilidade e inércia (BATISTA, 2010; LIMA, 2010).

A incorporação deste mineral a produtos cosméticos agindo como filtro solar físico é viabilizada pela sua biocompatibilidade e ausência de toxicidade (LIMA, 2006; ARAÚJO; LIMA; VALÉRIO, 2007; BATISTA, 2010; RIGANO; GAZZANIGA; RASTRELLI, 2010). Além disso, seu limite de absorção UV pode ser modulado para absorver na faixa desejada da UVB (290-320 nm) à UVA (320-400 nm), simplesmente pela introdução de um *dopping* (RIGANO; GAZZANIGA; RASTRELLI, 2010; ARAÚJO; SOUZA, 2010). Dopantes representados pelos metais de transição, como o Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} e Cr^{3+} , por exemplo, tendem a substituir os íons Ca^{2+} da rede da HAP recobrando os cristais (RIGANO; GAZZANIGA; RASTRELLI, 2010; ARAÚJO; SOUZA, SOUSA, 2010). Rigano (2010) demonstrou que a presença de pelo menos um metal melhora a capacidade de triagem da hidroxiapatita contra os raios UV.

O processo de substituição iônica da HAP pode ser realizado ainda com os metais de transição sob a forma de um sal de ácido láctico, carbônico, acético, benzóico, tartárico, cítrico, 3-hidroxipropiônico, málico, succínico, mandélico, salicílico ou ácidos graxos lineares (C3 a C18). Além de corroborar para o aumento da capacidade de proteção da HAP contra os raios UV, os metais, na forma de sal, também melhoram a dispersão desta nas formulações cosméticas, bem como sua distribuição e absorção na pele. Protetores solares à base de HAP formulados dessa maneira provaram ser extremamente estáveis e compatíveis com a pele (RIGANO; GAZZANIGA; RASTRELLI, 2010).

Em suma, a eficácia dos filtros solares inorgânicos na prevenção do envelhecimento cutâneo precoce e câncer de pele tem sido largamente documentada. Não há dúvidas de que os filtros inorgânicos apresentam marcante atividade fotocatalítica. Por essa razão, medidas de caráter inibitório, tais como revestimento dessas partículas, foram desenvolvidas visando garantir a segurança dos filtros solares. O ponto crítico neste fato é que ainda não há uma regulamentação que obrigue os fabricantes de protetores solares a especificar o tipo de filtro utilizado em seus produtos.

Ainda assim, a análise das evidências de penetração percutânea e toxicidade dos filtros solares requerem cautela, pois se deve considerar alguns fatores extremamente relevantes, como por exemplo, o tipo de estudo a partir do qual foram tiradas as conclusões, pois sabe-se que diversos fatores intrínsecos ao ensaio (espécies usadas, via de exposição, duração do experimento, concentração de partículas, condições de luz) podem influenciar nos resultados

toxicológicos. É claramente perceptível que os estudos analisados, invariavelmente, determinaram o grau de toxicidade do TiO_2 e ZnO em pele íntegra de animais ou em experimentos *in vitro*. Faltam, portanto, pesquisas que esclareçam os potenciais de risco em pele não saudável *in vivo*.

Embora haja preocupações justificáveis sobre a segurança a longo prazo dos filtros solares inorgânicos, acredita-se que os benefícios que estes trazem ao proteger a pele contra os indiscutíveis efeitos maléficos da radiação UV, superam claramente os riscos potenciais. Também, o desvelo na elaboração da formulação é de fundamental importância para a obtenção de um protetor solar seguro e eficaz, sendo indispensável o conhecimento aprofundado sobre o comportamento físico-químico, compatibilidade entre os componentes da formulação, concentrações ideais destes além de bons métodos para a incorporação dos filtros inorgânicos ao produto final. No entanto, questões importantes permanecem, e admite-se que mais pesquisas são necessárias.

Frente a estas discussões, com o crescente investimento em pesquisas na busca por novos materiais que podem potencialmente ser aplicados como filtros solares e o desenvolvimento de fotoprotetores cada vez mais sofisticados, não há dúvidas de que a segurança desses produtos será considerada cada vez mais um parâmetro de importância primária a ser avaliado.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar protetores solares à base de filtros inorgânicos, mais especificamente, óxido de zinco, dióxido de titânio e hidroxiapatita, a fim de se obter um produto com baixo potencial de risco biológico e alta proteção.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a atividade fotocatalítica de filtros inorgânicos em função do tamanho e revestimento das partículas;
- ✓ Avaliar a influência de excipientes na formulação, mais especificamente, excipientes que interferem na (i) estabilidade da formulação, (ii) incompatibilidade com filtros inorgânicos e (iii) FPS;
- ✓ Avaliar a influência do método de preparo da formulação;
- ✓ Realizar a caracterização físico-química das formulações de protetores solares;
- ✓ Avaliar a influência dos parâmetros de formulação e métodos de preparo por meio de análise organoléptica, pH, tamanho de partícula, potencial zeta na estabilidade física das formulações desenvolvidas;
- ✓ Avaliar a influência dos parâmetros de formulação e método de preparo na absorção/reflexão UV das formulações desenvolvidas, por espectroscopia fotoacústica.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 REAGENTES

Dióxido de titânio puro (Synth- Lote 114575); dióxido de titânio M195 revestido com sílica (UNICHEM - Lote 0725003); dióxido de titânio M212 revestido com alumina (UNICHEM - Lote 0808002); dióxido de titânio micronizado (DEG - Lote K92195011); óxido de zinco (Dinâmica-Lote 30414); óxido de zinco ultrafino - Nanox 200 (Via Farma - Lote 7BBN0924); ácido benzóico (Natural Pharma - Lote 24299); ácido salicílico (Vetec Química Fina - Lote 042939); ácido ascórbico; ácido cítrico (Vetec Química Fina - Lote 0707276); ácido láctico (Vetec Química Fina- Lote 048808); ácido glicólico 2% (DEG - lote 06067670); azul de metileno (Nuclear-Lote 06030383); Polawax[®] (DEG - Lote CN570-0111); Tween 80[®], Tween 20[®] (Synth - Lote 109058 e 109096); silicone SF volátil (Ciclomethicone) (Natural Pharma – Lote 0002169624); fenoxietanol (Sigma – Lote 119082011378867); miristato de isopropila (Synth – Lote 112928); Triglicérides de ácido cáprico/caprílico (Synth – Lote 129054); propilenoglicol (Dinâmica – Lote 29018); álcool cetílico (DEG- lote 06277720); manteiga de karité (DEG: lote CN084-1010); EDTA; água destilada.

A hidroxiapatita foi sintetizada por Ricardo Yoshimitsu Miyahara- Departamento de Física- UNICENTRO.

4.2 EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

- ✓ Centrífuga (Bioeng modelo BE-5100);
- ✓ Balança eletrônica (Bioprecisa modelo FA 2104N);
- ✓ Espectrofotômetro UV-VIS 600 Plus (Femto) e cubetas de vidro;
- ✓ Agitador magnético (Edulab);
- ✓ Câmara escura equipada com lâmpada UVA 15 Watts (T8 350 BL Sylvania Blacklighth) e lâmpada UVB 15 Watts (T8 BLB Sylvania Granlighth);
- ✓ Microscópio óptico (Bioval);
- ✓ Microscópio óptico modelo Axioplan 2 (Carl Zeiss AG, Alemanha) acoplado a câmera digital AxioCAN HRc (Carl Zeiss AG, Alemanha);
- ✓ Pipeta automática Kacil (1000 µL);

- ✓ Placas de Petri (diâmetro 6 cm); Béquer, tubos de ensaio, pipetas de vidro, lâminas e lamínulas, gral e pistilo, espátulas; frascos plásticos para armazenagem;
- ✓ Manta aquecedora (Edulab);
- ✓ pHmetro modelo mPA-210;
- ✓ Estufa modelo G4023D (Gehaka);
- ✓ Refrigerador (Consul);
- ✓ Medidor de Luz Ultravioleta Digital UVA e UVB Modelo MRU-201 (Instrutherm);
- ✓ Zetasizer 3000 HSa (Malvern Instruments, Alemanha);
- ✓ Espectrofotômetro fotoacústico.

4.3 ESTUDO DE FOTOCATÁLISE

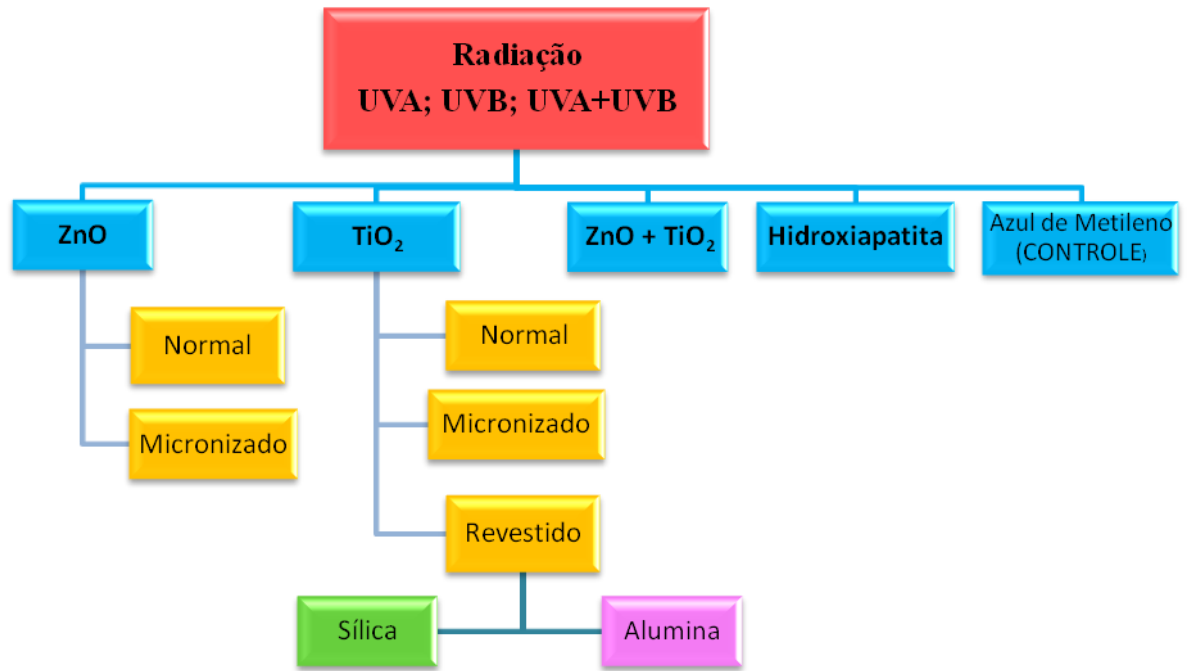
As análises foram realizadas com base no método descrito por RAMPAUL; PARKIN; CRAMER, (2007). TiO_2 , ZnO e HAP foram misturados com solução de azul de metileno (1×10^{-4} M) na proporção de 1:100 (m/v). As suspensões formadas foram agitadas por 24 h, ao abrigo da luz, para permitir o equilíbrio. Uma alíquota da suspensão (10 mL) foi transferida para uma placa de petri (6 cm de diâmetro). Em seguida, as amostras foram irradiadas com uma luz UVA de 15 Watts (intensidade de radiação de aproximadamente $970 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^2$) com emissão máxima de 365 nm, e UVB de 15 Watts (intensidade de radiação de aproximadamente $478 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^2$) com emissão máxima de 290 nm, a uma distância de 15 cm a partir de superfície de mistura de reação. As análises foram realizadas primeiramente com luz UVA, logo UVB e por último UVA e UVB juntas.

A cada intervalos de 30 min as amostras foram retiradas da irradiação e centrifugadas (3500 g/5 min) para remoção dos sólidos. Em seguida, a solução remanescente foi analisada em espectrofotômetro UV-VIS a 660 nm para determinação da concentração de azul de metileno remanescente. Previamente às análises de espectrofotometria, as amostras foram apropriadamente diluídas, ou seja, para leitura da absorbância entre 0,1 e 1,0. O controle foi realizado com azul de metileno sem filtro solar. A Figura 7 apresenta as variáveis investigadas no estudo de fotocatalise. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A análise estatística teve seus resultados expressos como média \pm desvio padrão da média (D.P.M.). A diferença entre dois grupos foi determinada por meio de teste *t* não-pareado e entre vários grupos pela análise de variância de uma-via (ANOVA). As análises

estatísticas foram realizadas com o programa *Prism GraphPad*. Um valor de $P < 0.05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Figura 7 – Esquema das variáveis analisadas no estudo de fotocatalise



4.3.1 Análises dos resultados

Os resultados foram expressos na forma de gráfico tendo no eixo “y” a concentração de azul de metileno no tempo t (C) dividida pela concentração de azul de metileno no tempo 0 min. (C_0), ou seja, C/C_0 , em função do tempo de reação no eixo “x”. As concentrações de azul de metileno na presença dos filtros solares foram normalizadas pelas medidas realizadas com o azul de metileno, nas mesmas condições, porém, na ausência dos óxidos, com incidência de luz UVA, UVB e UVA/UVB. O decréscimo na concentração de azul de metileno está associado à atividade fotocatalítica dos compostos em questão.

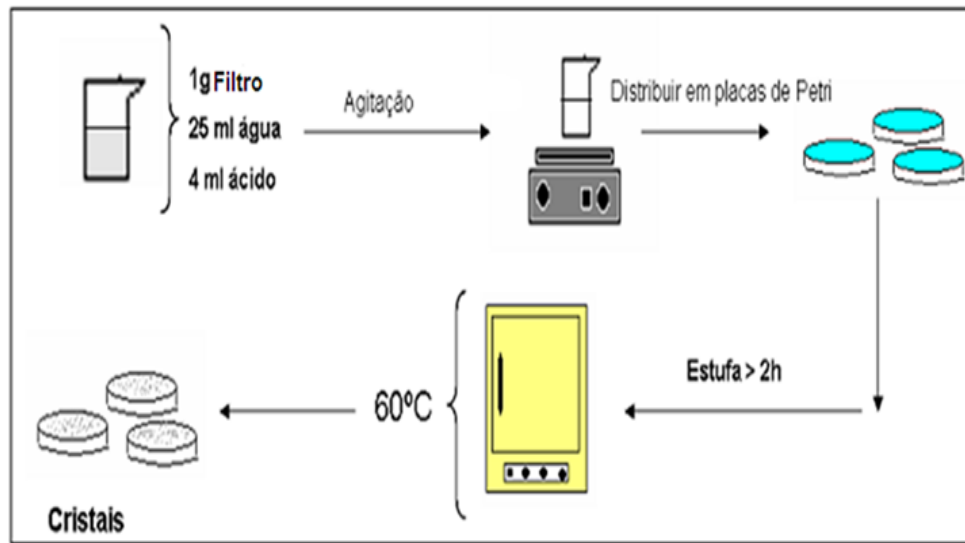
4.4 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DOS FILTROS SOLARES COM ÁCIDOS ORGÂNICOS

Para verificar a compatibilidade com diferentes ácidos orgânicos (ácido benzóico, salicílico, cítrico, láctico e glicólico, ascórbico) usados em produtos cosméticos, o ZnO, TiO₂ e HAP foram colocados em contato com estas substâncias em lâmina/lamínula e observado em microscópio óptico acoplado a câmera digital com sistema de vídeo e aquisição automática de imagem.

O ácido glicólico e láctico foram utilizados na forma pura por encontrarem-se no estado líquido. Soluções saturadas dos ácidos benzóico, cítrico e salicílico foram previamente preparadas em meio aquoso conforme suas solubilidades e, em seguida, foram colocadas em contato com os óxidos para verificar a formação de cristais. As soluções saturadas foram preparadas com excesso de soluto agitado em água por 24 h para atingir o equilíbrio. Em seguida, as soluções foram filtradas em papel de filtro para eliminar o excesso de soluto. As análises foram realizadas a 25°C.

Os compostos que apresentaram incompatibilidades também foram testados para este fim (formação de cristais) no produto final, ou seja, em sistema emulsionado. Para avaliar a influência das incompatibilidades na atividade fotocatalítica dos filtros solares, foi necessária a padronização de um método de obtenção dos cristais em maior escala. Os métodos testados foram: precipitação seguida de filtração pela variação de pH e adição de solvente (etanol), solubilização e precipitação por evaporação de solvente. Neste último, em um béquer, foi adicionado 1g de ZnO, 25 mL de água e 4 ml de ácido láctico. O mesmo foi feito para o ácido glicólico. Foi mantido sob agitação com o auxílio de um agitador magnético até que a solução passasse de turva a transparente. Distribuíram-se as soluções em placas de Petri e levou-se à estufa pré-aquecida a 60°C. Assim a água evaporou e permaneceram na placa os cristais que anteriormente haviam sido solubilizados. (Figura 8). As placas de Petri contendo a solução permaneceram na estufa por no mínimo 2 horas.

Figura 8 - Esquema do método para obtenção de cristais.



4.5 DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO

Os protetores solares foram desenvolvidos na forma de emulsões O/A à base de emulsionantes não iônicos que possuem boa compatibilidade com a maioria das matérias-primas utilizadas em cosméticos e alto poder de redução da tensão superficial e interfacial.

Foram desenvolvidas emulsões de fotoprotetores pela metodologia convencional e formulações a partir de uma pré-dispersão de filtros inorgânicos em veículo oleoso que foram incorporadas posteriormente ao creme-base, para avaliação da influência do método de preparo nas características sensoriais, organolépticas, e estabilidade do produto final. Formulações contendo manteiga de karité foram preparadas a fim de avaliar uma possível sinergia com filtros inorgânicos que pudesse promover o aumento do FPS. Formulações desenvolvidas com ZnO foram acrescidas de ácido glicólico e ácido lático ao final para estudo de incompatibilidades.

4.5.1 Preparo do creme base não-iônico

O creme base foi obtido pelo método de clássico de emulsificação, mediante dispersão de fase oleosa em fase aquosa fundidas separadamente à uma temperatura entre 80-85°C e 75-80°C, respectivamente. Posteriormente, a fase aquosa foi vertida sobre a oleosa, mantendo-se

o sistema sob agitação constante e vigorosa até que atingisse o arrefecimento à temperatura ambiente (25°C) e adquirisse consistência viscosa. O agente formador de filme foi adicionado após resfriamento da emulsão.

As variáveis de fase oleosa da formulação do creme base investigadas foram: Agente co-emulsionante não-iônico, emoliente e formador de filme.

A escolha dos componentes do creme base foi definida após preparo de diversas formulações, onde a variação dos excipientes e suas respectivas quantidades foram de fundamental importância até ser selecionado o creme base final.

4.5.2 Avaliação da influência do método de preparo nas emulsões

4.5.2.1 Preparo de pré-dispersões

Os componentes foram pesados em balança analítica, na sequência: agente veículo, seguido do agente molhante e transferido para um gral, sendo homogeneizados com o pistilo, em temperatura ambiente (25°C). Logo, adicionou-se lentamente o filtro inorgânico seguido do agente formador de filme sob homogeneização contínua até completa incorporação dos ingredientes.

As pré-dispersões foram desenvolvidas a base de ZnO micronizado, TiO₂ revestido com alumina, ZnO micronizado associado ao TiO₂ alumina, e por fim com hidroxiapatita. As variáveis investigadas foram: veículo, agente molhante e agente formador de filme.

4.5.2.2 Método de incorporação da pré-dispersão de filtros inorgânicos ao creme base

A preparação dos fotoprotetores, incorporando ao creme-base diferentes concentrações de pré-dispersão, teve como objetivo encontrar a concentração máxima de filtros que apresentasse melhor resultado sensorial, físico-químicos e microscópicos sem causar perda de estabilidade do produto final.

A incorporação se deu adicionando-se uma quantidade de pré-dispersão em diferentes concentrações: 30, 35, 40% a um gral contendo o creme-base, com a ajuda de um pistilo para a homogeneização. A escolha da maior concentração de pré-dispersão a ser utilizada foi definida após estudo de estabilidade por teste de centrífuga. Foram então preparados 30g de protetor solar para cada filtro, cada qual com 9 g de pré-dispersão e 21g de creme base.

4.5.3 Avaliação dos excipientes que interferem no FPS

Semelhante ao método descrito no item 4.5.2.1, foram desenvolvidas pré-dispersões contendo um segundo agente emoliente representado pela manteiga de karité (MK), em duas concentrações diferentes (1:1 e 1:2) em relação ao veículo (MK: veículo), a fim de averiguar sua influência sobre os aspectos físico-químicos, bem como na estabilidade do fotoprotetor. A MK foi incorporada a frio nas formulações, seguida do veículo, agente molhante, e por fim o agente formador de filme. A Tabela 2 apresenta a composição das pré-dispersões contendo manteiga de karité.

Tabela 2 - Composição das pré-dispersões contendo Manteiga de Karité e suas respectivas quantidades.

| COMPOSIÇÃO | PRÉ-DISPERSÕES (M/M) | | | | | |
|-------------------------|------------------------|--------------------------|----------------|------------------------|--------------------------|----------------|
| | 1:1 (karité:miristato) | | | 1:2 (karité:miristato) | | |
| | ZnO micronizado | TiO ₂ alumina | Hidroxiapatita | ZnO micronizado | TiO ₂ alumina | Hidroxiapatita |
| Miristato de isopropila | 24,5% | 24,5% | 24,5% | 32,6% | 32,6% | 32,6% |
| Tween 80 [®] | 0,5% | 0,5% | 0,5% | 0,5% | 0,5% | 0,5% |
| Silicone SF volátil | 0,5% | 0,5% | 0,5% | 0,5% | 0,5% | 0,5% |
| Manteigade Karité | 24,5% | 24,5% | 24,5% | 16,4% | 16,4% | 16,4% |

4.5.4 Avaliação de Excipientes que apresentam incompatibilidades com filtros inorgânicos

Obteve-se duas formulações contendo ZnO e acrescentou-se 2% de ácido glicólico em uma e em outra 2% de ácido lático, para analisar possíveis modificações na formulação.

4.6 MÉTODO DE INCORPORAÇÃO DOS FILTROS INORGÂNICOS À EMULSÃO SEM A TÉCNICA DA PRÉ-DISPERSÃO

Em um geral adicionou-se o creme base previamente preparado conforme item 4.5.1, seguido dos componentes da pré-dispersão sem o filtro, e homogeneizou-se com auxílio de pistilo. Após todos os ingredientes já estarem homogeneizados acrescentou-se o filtro inorgânico lentamente e agitou-se até incorporação à emulsão.

Foi preparada uma formulação contendo ZnO micronizado, TiO₂ revestido com alumina, ZnO micronizado associado ao TiO₂ alumina, e por fim com hidroxiapatita. O grupo controle não contém filtro.

4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS EMULSÕES DE FOTOPROTETORES OBTIDAS

A avaliação das emulsões de fotoprotetores foi realizada logo após preparação, 24 h após preparo e após teste de estabilidade preliminar. As amostras após o preparo foram acondicionadas em embalagem plástica com tampa. Cada determinação foi realizada em triplicata.

4.7.1 Determinação do valor de pH

A medida foi determinada com pHmetro. Utilizou-se 1,0% (p/p) da amostra diluída em água destilada (BRASIL, 2007).

4.7.2 Avaliação organoléptica

As análises foram realizadas de acordo com o Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos (BRASIL, 2007).

Aspecto: foi realizada uma avaliação visual das formulações e as mesmas foram deixadas em repouso por 24 horas, e posteriormente analisadas macroscopicamente, a fim de avaliar se existiu separação aparente de fases, viscosidade da formulação, grumos, formação de sobrenadante e aparência geral das formulações.

Esta análise foi realizada para o creme base, pré-dispersões e formulação final de todas

as amostras, como uma prévia para os ensaios organolépticos. Neste momento observou-se cor, odor, presença de precipitados ou separação de fases, sob luz natural.

Cor: a análise da cor (colorimetria) foi realizada por meio visual. Nesta análise comparou-se a cor da amostra com a de um padrão armazenado em frasco da mesma especificação (creme base e pré-dispersão isolada). A análise foi realizada sob condições de luz “branca” artificial.

Odor: a amostra e o padrão de referência, acondicionados no mesmo material de embalagem, tiveram seu odor comparado diretamente através do olfato.

4.7.3 Análise microscópica

Com o auxílio de microscópio óptico foram observadas lâminas preparadas com amostra dos protetores solares formulados, atentando-se para o tamanho, forma e distribuição das partículas, se homogêneas ou não; presença de aglomerados, grumos, e seus tamanhos, presença de bolhas de ar e gotículas de óleo. A análise foi realizada em triplicata.

4.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE

A avaliação da estabilidade dos protetores solares foi realizada de acordo com o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (BRASIL, 2004). As amostras armazenadas em temperatura ambiente foram monitoradas por 30 dias.

4.8.1 Teste de centrífuga

Logo após o preparo das formulações, aproximadamente 5,0 g de cada amostra foram pesados e submetidos à centrifugação em ciclos de 1000 g durante 30 minutos a temperatura ambiente (25°C). Em seguida, foi realizada a avaliação visual e/ou microscópica (BRASIL, 2007). Cada teste foi efetuado em triplicata.

4.8.2 Teste de estabilidade preliminar

Trinta gramas (30,0g) das formulações desenvolvidas foram acondicionadas em frascos plásticos fechados e submetidas à condições variáveis de temperatura em ciclos

alternados (estresse térmico). As amostras foram submetidas às temperaturas de $5 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas e $45 \pm 2^\circ\text{C}$ por mais 24 horas, completando assim um ciclo (BRASIL, 2004). As leituras dos parâmetros de estabilidade foram realizadas antes do início do teste, 24 horas após preparo, e ao final do 6º ciclo consecutivo (12º dia), e posteriormente comparadas com as amostras padrão, que foram mantidas em temperatura ambiente, ao abrigo da luz.

As amostras foram avaliadas macroscopicamente a cada mudança de temperatura durante a realização do teste e ao final foram avaliadas as características organolépticas (aspecto, cor, odor), pH, e separação de fases, além do teste de centrífuga.

4.9 DETERMINAÇÃO DE POTENCIAL ZETA E TAMANHO DE PARTÍCULA

O potencial zeta e o tamanho das partículas das formulações recentemente preparadas foram determinados a 25°C usando-se medidas de espalhamento dinâmico de luz em equipamento Zetasizer 3000 HSA (Malvern Instruments, Alemanha) e laser de HeNe operando a 10 mW e a 633 nm com ângulo de incidência de 90° . Normalmente, este valor está dentro da faixa de $+ / - 100\text{ mV}$ para a maioria dos sistemas imersos em meio aquoso. Medidas do diâmetro interno das partículas, bem como a distribuição, representada pelo índice de polidispersividade (PDI) foram obtidas a partir da presente análise.

As amostras foram diluídas 10X, 50X ou 100X para adequação da análise. As análises foram realizadas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – FCFRP/USP.

4.10 ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA

As análises de espectroscopia fotoacústica foram realizadas com o objetivo de verificar a influência dos parâmetros estudados na capacidade de absorção de luz UV dos protetores solares desenvolvidos. As amostras utilizadas no estudo foram preparadas 24 h antes das leituras. Os espectros de absorção foram obtidos para a região espectral do ultravioleta ao visível. A potência da fonte foi de 700 W e a frequência de modulação da luz de 20 Hz.

No sistema utilizado a fonte de luz é uma lâmpada de arco de Xenônio da marca Oriel, com potência de 1000 W, e emissão no intervalo entre 180 e 4000 nm. O monocromador,

modelo 77250 (1/8 m) da Oriel, foi utilizado com fendas de entrada e saída, ajustadas em 3,16 mm ou 1,56 mm. A frequência de modulação da luz é controlada por um modulador mecânico, modelo SR 540 da Stanford Research Systems que fornece um sinal de referência para o Lock-in (amplificador sincronizado). As lentes da montagem devem fazer com que a amostra seja excitada na região do foco do feixe de luz, para que esta receba o máximo de intensidade possível. A luz atinge o interior da célula fotoacústica após ser transmitida através de uma janela de quartzo, já que este material é transparente na região espectral de emissão da lâmpada. O microfone acoplado à célula fotoacústica é da marca Brüel & Kjaer, modelo BK 4943, e está conectado a um préamplificador e a uma fonte de alimentação, modelo 2690. O sinal do microfone é transferido para o Lock-in (amplificador sincronizado) modelo SR830 da marca Stanford Research Systems. O Lock-in fornece a intensidade e a fase do sinal fotoacústico que são transferidos para um microcomputador (ROSENCWAIG; GERSHO, 1975; ROSENCWAIG; GERSH, 1976)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção são apresentados os resultados obtidos do estudo sobre a influência da atividade fotocatalítica em função do tamanho e revestimento das partículas de filtros, influência dos excipientes na estabilidade da formulação e sua interferência no FPS, influência do método de preparo das formulações na sua estabilidade final, caracterização das amostras de protetores solares, bem como a influência que o método de preparo exerce sobre a absorção/reflexão UV das formulações desenvolvidas.

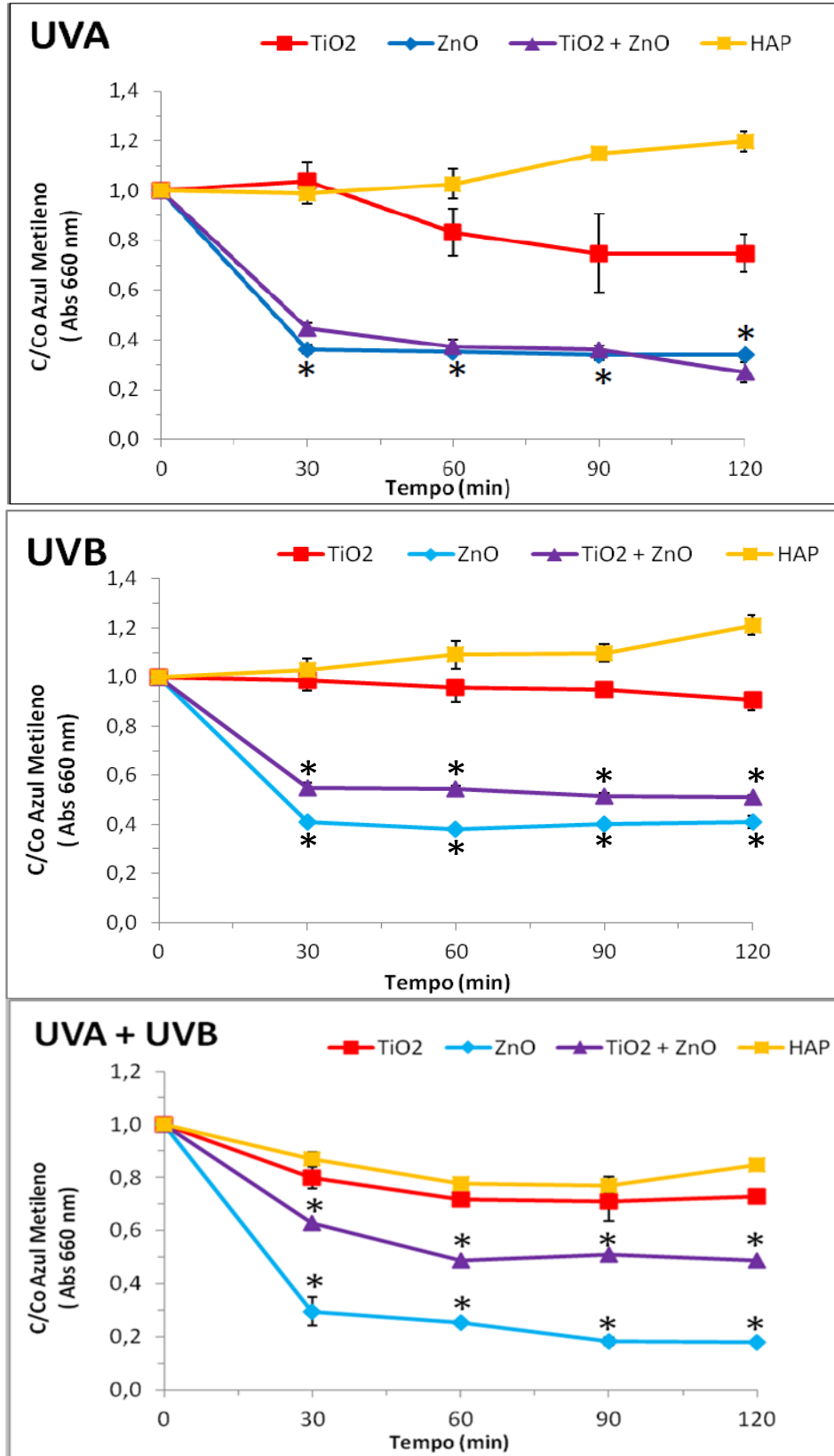
5.1 ESTUDO DE FOTOCATÁLISE

A Figura 9 apresenta os resultados da atividade fotocatalítica dos filtros inorgânicos TiO_2 , ZnO , $\text{TiO}_2 + \text{ZnO}$ e HAP na sua forma convencional, a qual apresenta tamanho de partículas de aproximadamente 200 a 500 nm, sob a ação da radiação UVA, UVB e UVA/UVB. A HAP apresenta tamanho de partículas de aproximadamente $1\mu\text{m}$. Utilizou-se o azul de metileno nos experimentos substituindo material biológico e indicador da atividade fotocatalítica, assim, os resultados foram avaliados por meio da fotodecomposição do azul de metileno por irradiação UV, o que representa a intensidade do potencial fotocatalítico de cada agente exposto.

Pode-se observar que o ZnO apresenta atividade fotocatalítica mais intensa que o TiO_2 , independente do tipo de radiação a que as partículas foram expostas. O TiO_2 apresentou a menor atividade fotocatalítica sob a radiação UVB, em torno de 10% após 120 min, mostrando resultados similares para as radiações UVA e UVA/UVB, sendo 25% e 23% de redução na concentração de azul de metileno, respectivamente. Já o ZnO exibiu intensa atividade em todas as radiações testadas, ficando em torno de 60% para a luz UVA e UVB e acima de 80% para a luz UVA/UVB após 120 min. Ao contrário dos resultados divulgados por Rampaul et al.,(2007), não observou-se potencialização da atividade fotocatalítica do ZnO e TiO_2 quando expostos em conjunto à radiação UV.

A Figura 9 mostra que, em até 60 min após início dos experimentos a HAP se manteve-se extremamente estável. E nos 60 min seguintes apresentou um aumento não significativo da concentração de azul de metileno.

Figura 9 - Atividade fotocatalítica do dióxido de titânio (TiO_2), óxido de zinco (ZnO), hidroxiapatita (HAP) em diferentes radiações ultravioleta (UVA; UVB e UVA+UVB). Os valores representam a média \pm desvio padrão. $n = 3$. (*) significa diferença estatística ($P < 0,05$) em relação ao tempo zero.

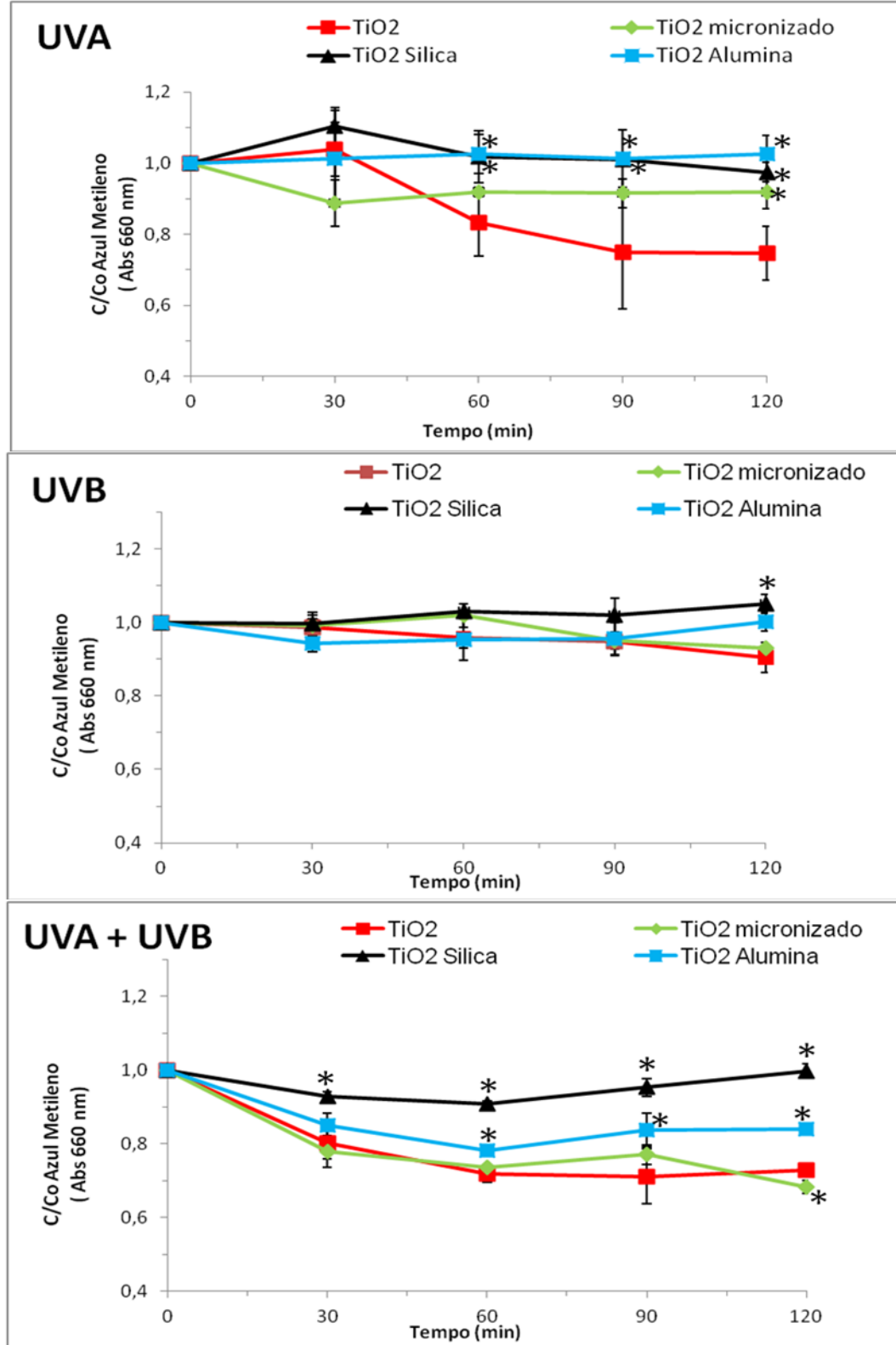


Se comparada com a atividade fotocatalítica do ZnO e TiO₂ é possível notar que a diferença entre as atividades é bastante considerável, só afirmando o potencial de degradação dos filtros inorgânicos ZnO e TiO₂, e estabilidade da hidroxiapatita como já foi referido. Assim, sem ser fotoativada por luz UV, acredita-se que não seja gerado ERO's e consequentemente danos ao DNA e outros. Em virtude da natureza da hidroxiapatita, e por ser já conhecida como biocompatível, acredita-se que diante da estabilidade que apresentou frente às radiações que foi submetida, esta possua uma boa tolerância cutânea e seja isenta de possíveis riscos.

A Figura 10 mostra a influência do tamanho de partícula e do revestimento na atividade fotocatalítica do TiO₂ exposto à radiação UVA, UVB e UVA/UVB. Devido ao aumento da área superficial e, consequentemente na área de contato, causada pela redução do tamanho de partícula, supunha-se que o TiO₂ micronizado (10 a 50 nm) apresentasse maior atividade fotocatalítica em relação à forma convencional. No entanto, os resultados mostraram que o tamanho de partícula não influenciou no potencial fotocatalítico do TiO₂, sendo que a forma micronizada apresentou resultados similares à forma convencional independente do tipo de radiação UV. O revestimento de partícula de filtros inorgânicos é uma estratégia bastante utilizada para reduzir o potencial de agregação entre elas, o que, consequentemente, reflete na estabilidade física do produto, facilidade de incorporação e sensorial mais agradável.

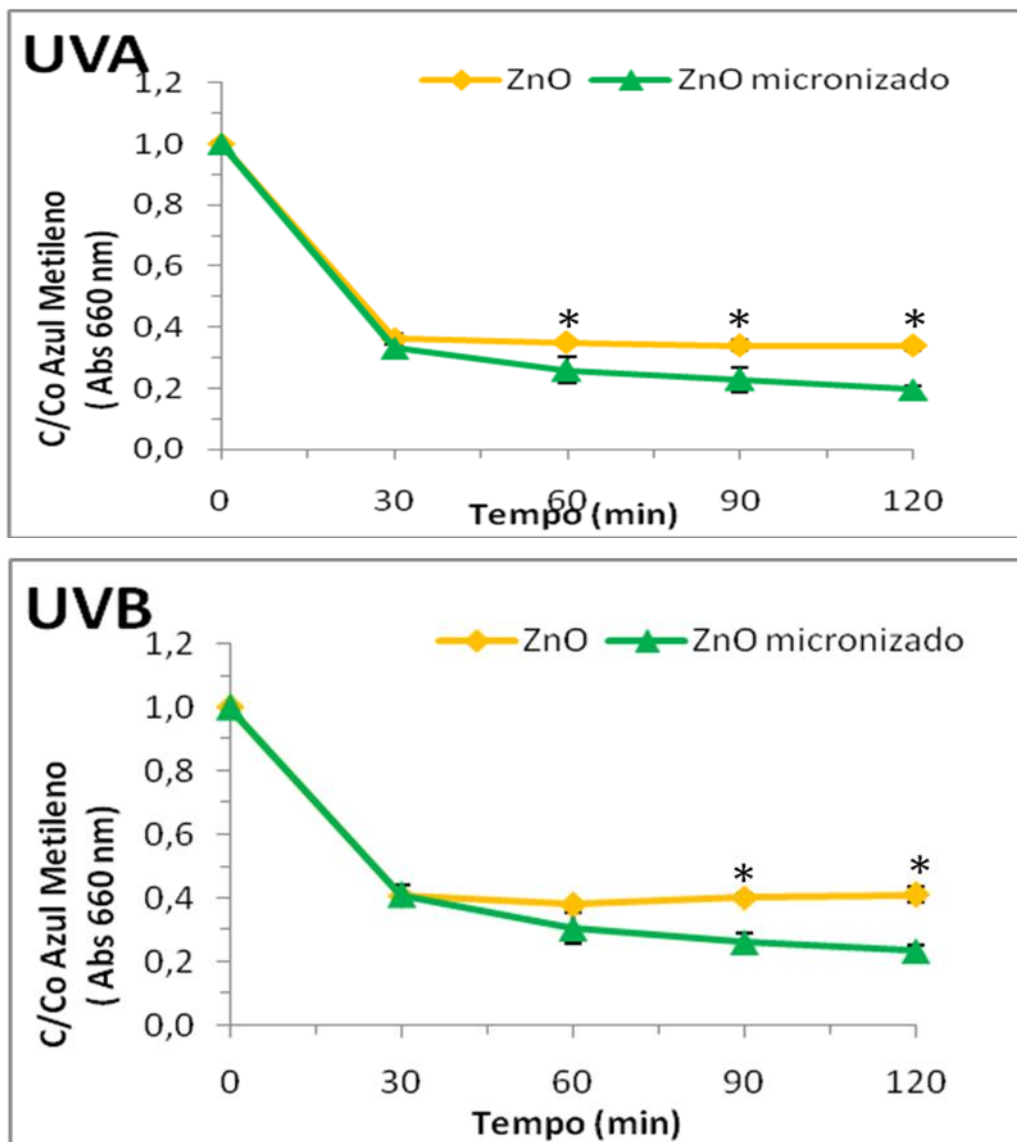
Conforme mostra a Figura 10, o revestimento das partículas de TiO₂ com sílica e alumina reduz de forma considerável a atividade fotocatalítica deste filtro inorgânico quando exposto à radiação UV. O revestimento com alumina praticamente inibiu a atividade fotocatalítica do TiO₂ na luz UVA e UVB, enquanto que o revestimento com sílica inibiu a ação do TiO₂ em todas as radiações testadas, inclusive UVA/UVB. O fato do revestimento com sílica ter apresentado um efeito inibitório maior que a alumina na atividade fotocatalítica do TiO₂ pode ser explicado pelo fato de que as partículas de TiO₂ revestidas com sílica apresentarem-se mais hidrofóbicas, impedindo o contato do TiO₂ com a solução de azul de metileno e, consequentemente, diminuindo a formação de radicais hidroxila.

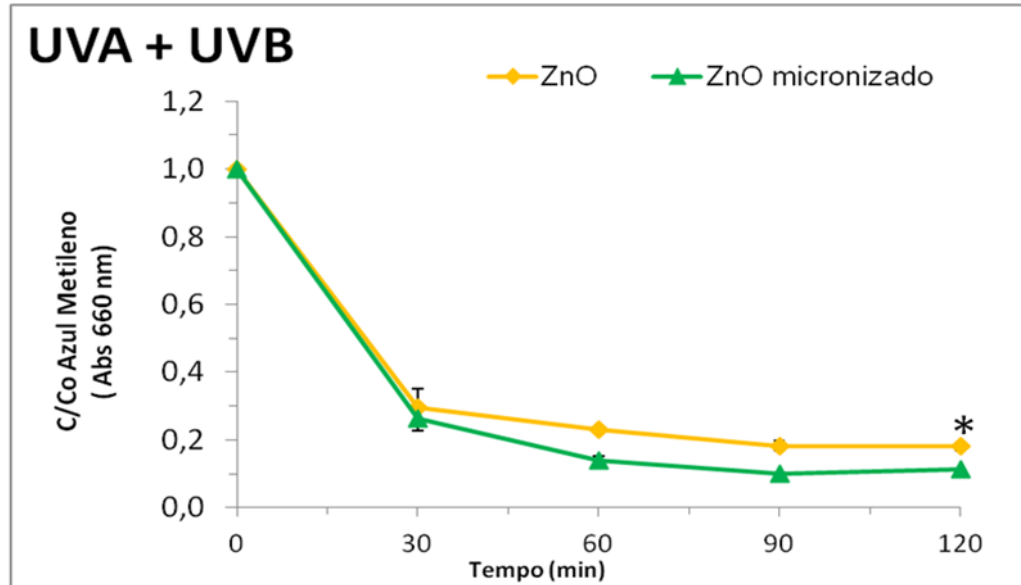
Figura 10 - Influência do revestimento e tamanho de partícula na atividade fotocatalítica do Dióxido de Titânio (TiO_2) em diferentes radiações ultravioleta (UVA; UVB e UVA+UVB). Os valores representam a média \pm desvio padrão. $n = 3$. (*) significa diferença estatística ($P < 0,05$) dos grupos sílica, alumina e micronizado em relação ao TiO_2 puro, quando comparado ao mesmo tempo de experimentação.



A influência do tamanho de partícula sobre a atividade fotocatalítica do ZnO é mostrada na Figura 11. Pode-se observar que o ZnO micronizado (10 a 50 nm) apresenta aumento significativo ($P < 0,05$) na atividade fotocatalítica frente à radiação UVA e UVB e ligeira, porém significativa variação quando exposto à radiação UVA/UVB. Esta variação situa-se em torno de 14% para a luz UVA e 17% para a luz UVB após um período de 120 min.

Figura 11 - Influência do tamanho de partícula na atividade fotocatalítica do óxido de zinco (ZnO) em diferentes radiações ultravioleta (UVA; UVB e UVA+UVB). Os valores representam a média \pm desvio padrão. $n = 3$. (*) significa diferença estatística ($P < 0,05$) do ZnO micronizado em relação ao ZnO normal.





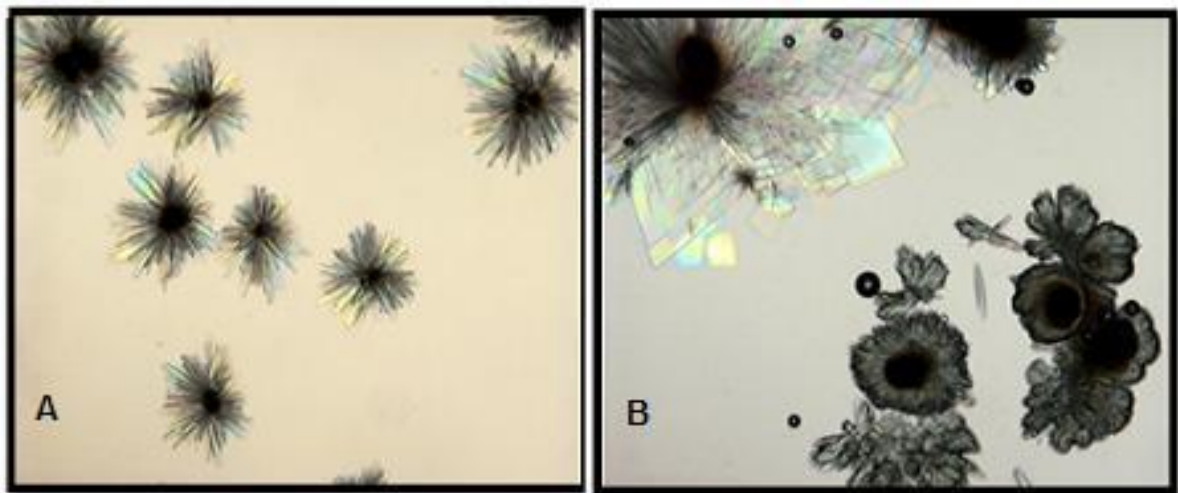
A fotorreatividade relacionada a tamanho de partículas tem levantado algumas preocupações, porque se sugere que as micropartículas destes ativos são mais fotorreativas que suas contrapartes e desta forma produzem ERO's que podem causar estresse oxidativo nos tecidos ou danos ao DNA (JING, 2001; NEWMAN, 2009). Até agora, ensaios *in vitro* tem demonstrado que micropartículas de filtro solar permanecem na superfície da pele e no estrato córneo entre as células de queratina, e não chegam às células subjacentes (BARNARD, 2010). No entanto, como a pele humana é imperfeita, não é uma barreira impenetrável, estudos experimentais também influenciam nos resultados toxicológicos, de modo que as espécies (ou modelo) usadas, via de exposição, a duração do experimento, concentração de partículas e condições de luz são capazes de influenciar os resultados das pesquisas (JOHNSTON, 2009).

5.2 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DE FILTROS INORGÂNICOS COM ÁCIDOS ORGÂNICOS USADOS EM PRODUTOS COSMÉTICOS

A Figura 12 apresenta cristais formados pelo ZnO na presença de ácidos orgânicos comumente usados em produtos cosméticos, mais especificamente, ácido láctico e ácido glicólico. Apesar de ambos os ácidos apresentarem diversas aplicações em produtos cosméticos faciais, inclusive em produtos com FPS, raros são os relatos

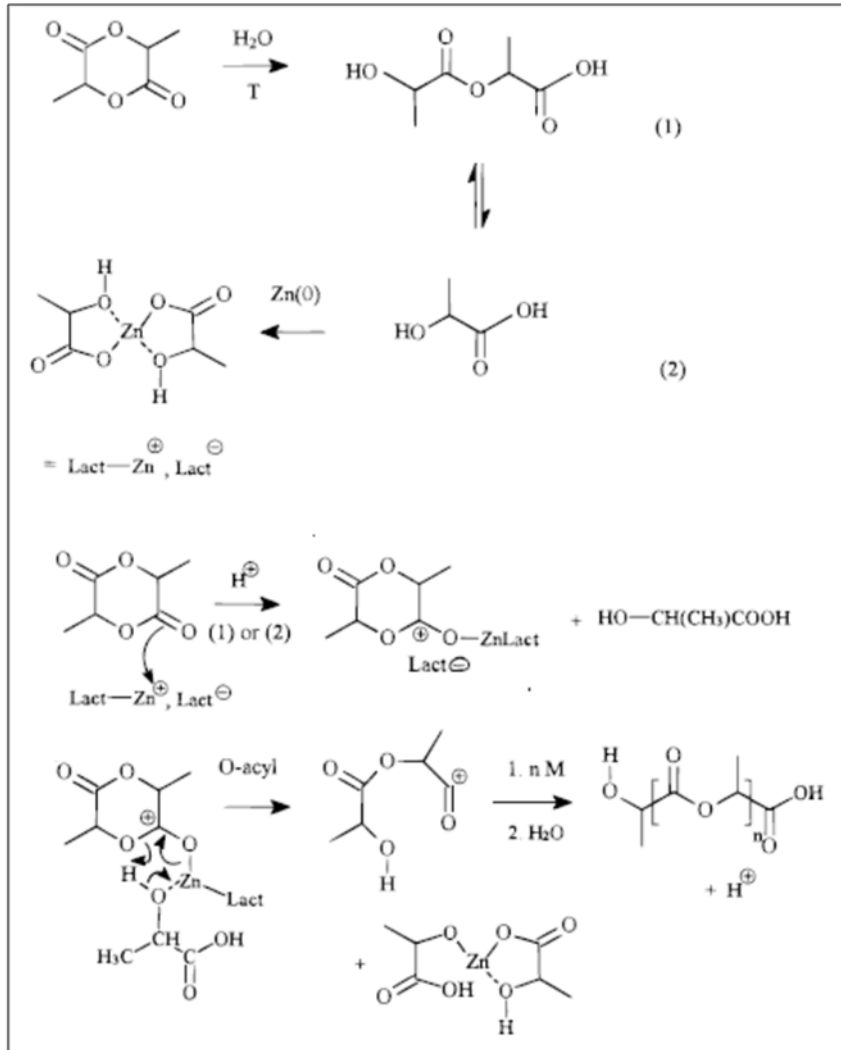
de interação entre o ZnO e estes componentes. Tanto o ZnO como o TiO₂, na forma convencional, revestida ou micronizada, não apresentaram outros tipos de incompatibilidades química com ácido benzóico, ácido cítrico, ácido salicílico e bases nos testes realizados.

Figura 12 -. Incompatibilidade do ZnO com alfa-hidroxiácidos observada por microscopia ótica (A) ZnO + Ácido láctico; (B) ZnO + Ácido glicólico. Aumento: 100X.



Acredita-se que os cristais formados são polímeros à base de ácido láctico e ácido glicólico. De acordo com a literatura (SCHWACH *et al.*, 1998), assume-se que a rota principal de síntese destes polímeros ocorre por meio da polimerização por abertura de anel de monômeros cíclicos, os quais, na verdade, são dímeros de lactídeos e/ou glicolídeo, conforme mostra a Figura 13. Porém, a literatura sobre a formação de cristais de ácido láctico e glicólico na presença de ZnO é escassa. Mais estudos são necessários para elucidar a participação do ZnO na formação destes cristais, isto é, se o ZnO participa na formação de um novo composto ou se o ZnO atua como um catalisador de reação na qual ocorre a polimerização dos ácidos láctico/glicólico.

Figura 13 - Esquema reacional da polimerização do ácido láctico na presença de ZnO



Fonte: SCHWACH et al., 1998.

5.2.1 Padronização do método para obtenção de cristais de ZnO com ácido glicólico e ácido láctico

Os estudos apresentados no item 5.2 demonstram que ZnO na presença de ácidos orgânicos comumente usados em produtos cosméticos, mais especificamente, ácido láctico e ácido glicólico, forma cristais e raros são os relatos de interação entre estes componentes. O desenvolvimento e padronização da técnica para obtenção dos cristais foi própria, por meio de tentativas, a fim de obter uma quantidade suficiente de cristais para poder submetê-los ao estudo de fotocatalise.

Obteve-se a quantia de 1 g de cristais de ácido láctico e ácido glicólico, o que era o

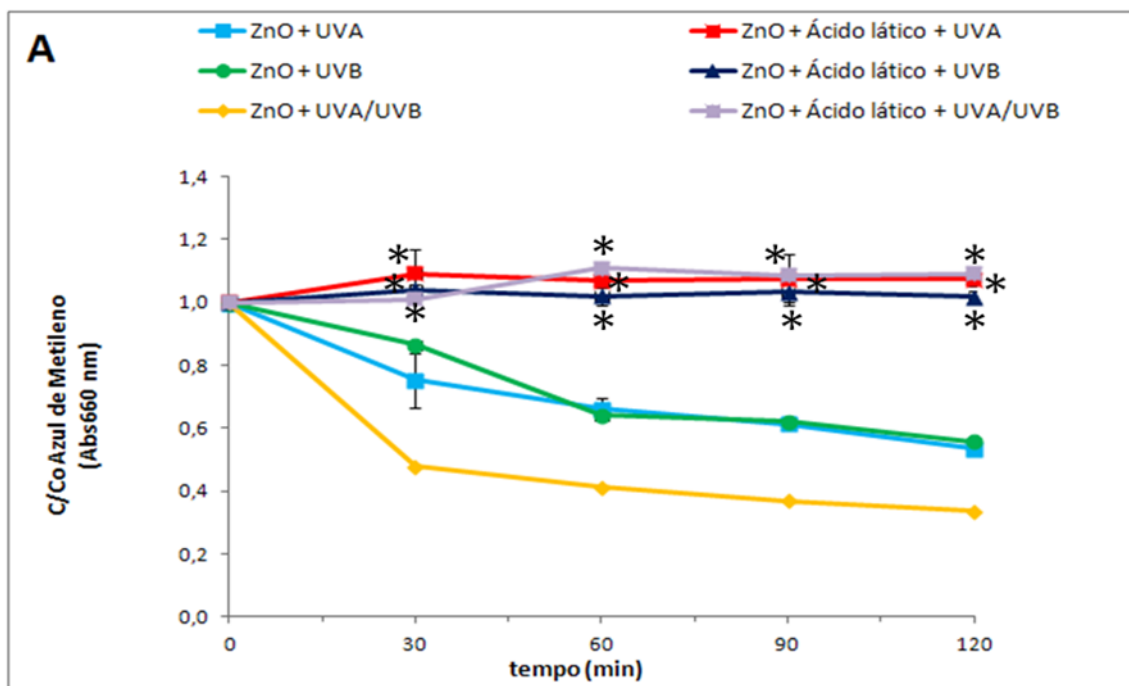
necessário e suficiente para nossos estudos.

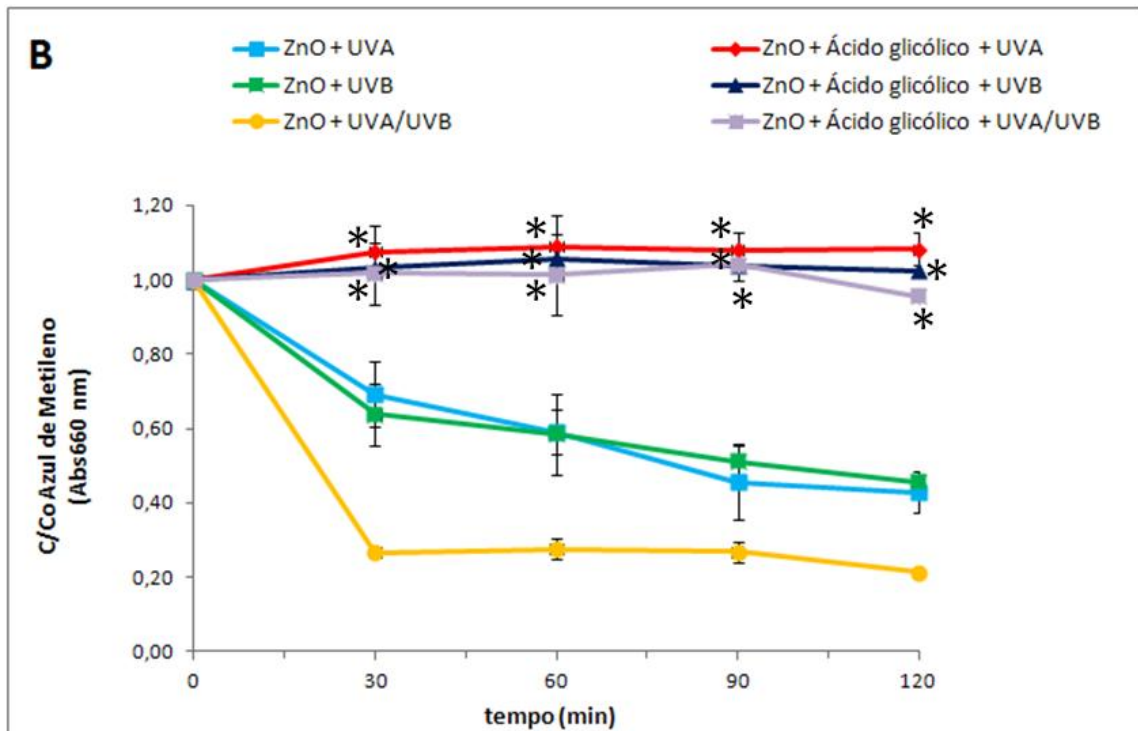
5.2.1.1 Estudo de fotocatalise com os cristais de ZnO

Os cristais obtidos foram submetidos ao estudo de fotocatalise a fim de saber se o ZnO participa na formação de um novo composto ou se ZnO atua como um catalizador de reação.

A formação de cristais com ácido láctico e glicólico inibe a atividade fotocatalítica do ZnO em todas as radiações UV e por todo o tempo que foi exposto, (Figura 14). Porém, a formação desses cristais pode causar interferência nas formulações alterando sua estabilidade, conforme explicitado no item 5.6.

Figura 14 -. Atividade fotocatalítica do óxido de zinco (ZnO) com cristais de ácido láctico (A) e ácido glicólico (B) em diferentes radiações ultravioleta (UVA; UVB e UVA+UVB). Os valores representam a média \pm desvio padrão. $n = 3$. (*) significa diferença estatística ($P < 0,05$) dos grupos contendo ácido láctico e ácido glicólico em relação ao ZnO puro quando comparado ao mesmo tempo de experimentação.





5.3 DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO

Os protetores solares foram desenvolvidos na forma de emulsões O/A à base de emulsionantes não iônicos que possuem boa compatibilidade com a maioria das matérias-primas utilizadas em cosméticos e alto poder de redução da tensão superficial e interfacial. Emulsões O/A permitem uma melhor espalhabilidade sobre a pele e também evitam a característica gordurosa das emulsões A/O que não agradam o usuário (SPAULDING, 2009). O produto formulado para fotoproteção deve ser de fácil espalhabilidade, mas viscoso o suficiente para formar um filme coerente sobre a pele. Deve-se levar sempre em conta durante a formulação de um produto de uso externo, a sua textura e sensação ao tato. O ideal é que as emulsões tenham propriedades reológicas de plasticidade/pseudoplasticidade e tixotropia (AULTON, 2005), ou seja, em repouso sua viscosidade é aumentada e sob agitação diminuída.

Assim, foram desenvolvidos fotoprotetores através da metodologia convencional e a partir de uma pré-dispersão de filtros inorgânicos em veículo oleoso que foram incorporados posteriormente ao creme-base, para avaliação da influência do método de preparo nas características sensoriais, organolépticas, e estabilidade do produto final. Após eleito o creme base (Tabela 3), utilizou-se a formulação base da melhor pré-dispersão e apenas

variou-se os filtros. Desta forma, 5 novas pré-dispersões foram obtidas dando origem a cinco formulações de fotoprotetor.

Formulações contendo manteiga de karité foram preparadas a fim de avaliar sua sinergia sobre os filtros inorgânicos levando a um aumento possível de FPS.

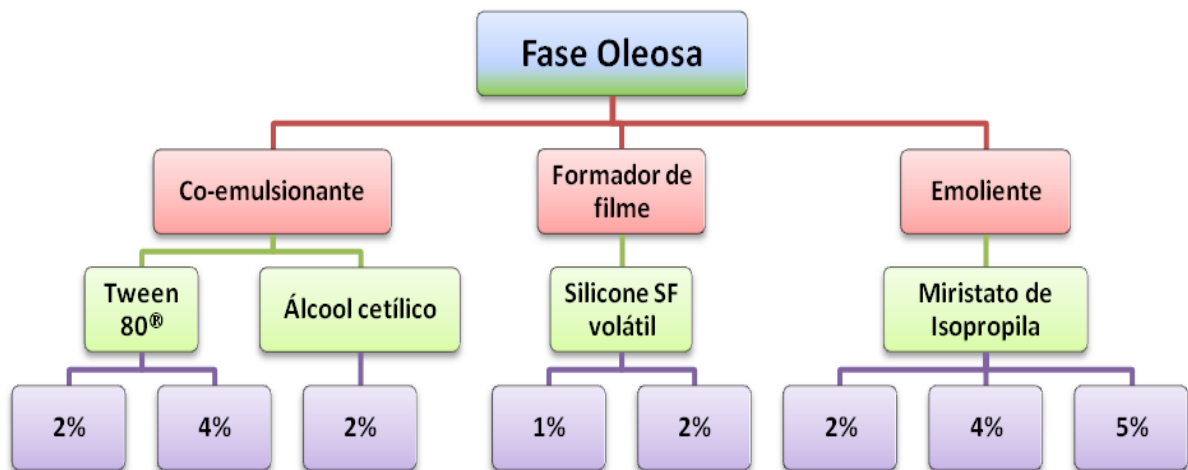
Formulações desenvolvidas com ZnO foram acrescentadas de ácido glicólico e ácido láctico ao final para estudo de incompatibilidades.

5.3.1 Influência dos excipientes que interferem na estabilidade

A escolha dos componentes do creme base foi definida após preparo de diversas formulações, onde se procurou identificar qual dentre estas apresentavam melhores característica físico-químicas, a fim de que pudesse ser alcançada uma maior estabilidade e melhor aspecto na formulação final do protetor solar, após a incorporação das pré-dispersões.

A Figura 15 apresenta as variáveis analisadas até ser definido a composição do creme base final. A primeira formulação do creme base desenvolvida é apresentada no Quadro 2.

Figura 15 - Esquema das variáveis analisadas no preparo do creme base.



Quadro 2 - Formulação 1 do creme base não-iônico

Fase Oleosa

| COMPONENTE | INCI NAME | CONCENTRAÇÃO (m/m) |
|-------------------------|---------------------|--------------------|
| Polawax [®] | Emulsifying Wax NF | 10% |
| Alcool cetílico | Cetyl Alcohol | 2% |
| Silicone SF | Cyclomethicone | 2% |
| Miristato de isopropila | Isopropyl Myristate | 2% |

Fase Aquosa

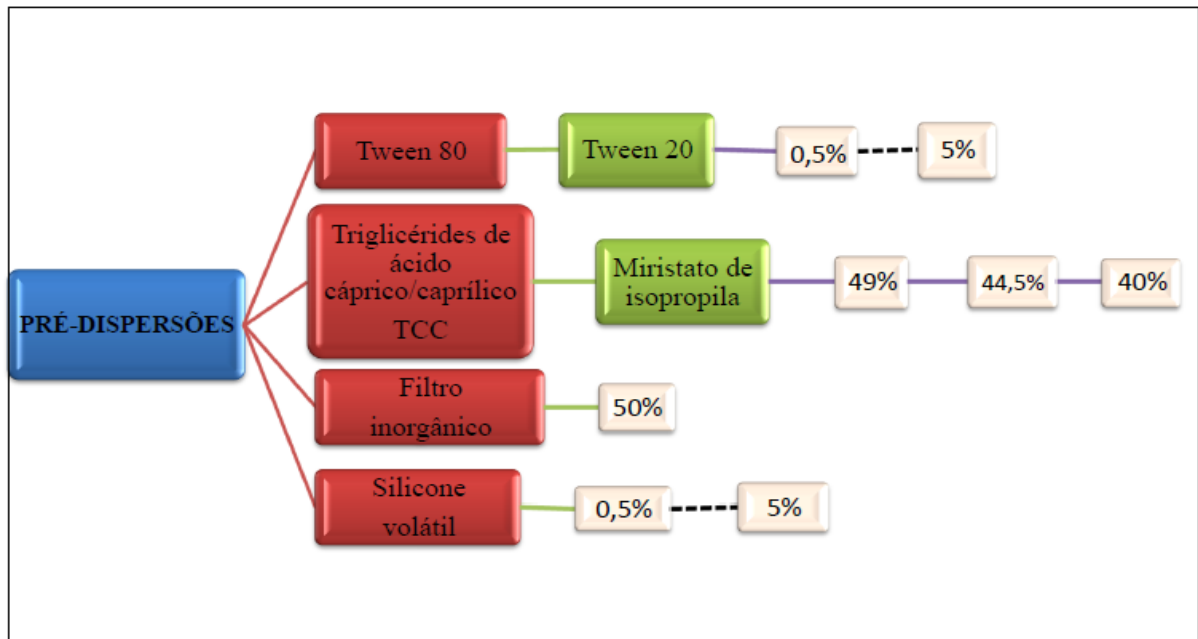
| COMPONENTE | INCI NAME | CONCENTRAÇÃO (m/m) |
|----------------------|------------------|--------------------|
| EDTA | Disodium EDTA | 0,01% |
| Propilenoglicol | Propylene Glycol | 10% |
| Fenoxietanol | Phenoxyethanol | 0,25% |
| Água destilada q.s.p | Aqua | 100% |

Após pronto creme base e pré-dispersões, preparou-se a formulação de protetor solar incorporando 40% (m/m) destas pré-dispersões ao creme base. Foram preparados 30,0 g de protetor solar, quantidade suficiente para realização ensaios de pH, microscopia, macroscopia, organolépticos e teste de centrífuga. A incorporação de 40% de pré-dispersão representa 20% de filtro inorgânico no produto final, posto que é permitido a utilização de até 25% de ZnO e TiO₂ (BRASIL, 2006).

Nesta primeira fase do preparo das pré-dispersões utilizou-se apenas o ZnO como filtro. Após definir a melhor formulação tomou-se esta como base para incorporar o TiO₂ e HAP. Também foram avaliadas variáveis na pré-dispersão obtendo-se oito pré-dispersões, conforme mostrado na Figura 16.

Posteriormente, preparou-se uma segunda formulação (Quadro 3) de creme base não-iônico, de acordo com método descrito no item 4.4.1. Na formulação 2, o álcool cetílico foi substituído por tween 80[®],

Figura 16 – Esquema da composição das pré-dispersões contendo ZnO como filtro inorgânico e suas variáveis analisadas.



Quadro 3 - Formulação 2 do creme base não-iônico

Fase Oleosa

| COMPONENTE | INCI NAME | CONCENTRAÇÃO (m/m) |
|-------------------------|---------------------|--------------------|
| Polawax® | Emulsifying Wax NF | 10% |
| Tween 80® | Polysorbate 80 | 2% |
| Silicone SF | Cyclomethicone | 2% |
| Miristato de isopropila | Isopropyl Myristate | 4% |

Fase Aquosa

| COMPONENTE | INCI NAME | CONCENTRAÇÃO (m/m) |
|-----------------|------------------|--------------------|
| EDTA | Disodium EDTA | 0,01% |
| Propilenoglicol | Propylene Glycol | 10% |
| Fenoxietanol | Phenoxyethanol | 0,25% |
| Água destilada | Aqua | q.s.p. |

Todas as oito pré-dispersões foram incorporadas à esta segunda formulação de creme base, seguindo o mesmo procedimento de incorporação descrito anteriormente (item 4.4.2.2). Logo, foram submetidas aos ensaios de pH, microscopia, macroscopia, organolépticos e teste de centrifuga.

Com o objetivo de diminuir a fase oleosa, foram desenvolvidas uma terceira e quarta formulação de creme base (Quadro 4 e 5).

Quadro 4 - Formulação 3 do creme base não-iônico

Fase Oleosa

| COMPONENTE | INCI NAME | CONCENTRAÇÃO (m/m) |
|-------------------------|---------------------|--------------------|
| Polawax [®] | Emulsifying Wax NF | 10% |
| Tween 80 [®] | Polysorbate 80 | 2% |
| Silicone SF | Cyclomethicone | 1% |
| Miristato de isopropila | Isopropyl Myristate | 2% |
| Alcool cetílico | Cetyl Alcohol | 2% |

Fase Aquosa

| COMPONENTE | INCI NAME | CONCENTRAÇÃO (m/m) |
|-----------------|------------------|--------------------|
| EDTA | Disodium EDTA | 0,01% |
| Propilenoglicol | Propylene Glycol | 10% |
| Fenoxietanol | Phenoxyethanol | 0,25% |
| Água destilada | Aqua | q.s.p. |

Quadro 5 - Formulação 4 do creme base não-iônico

Fase oleosa:

| COMPONENTE | INCI NAME | CONCENTRAÇÃO (m/m) |
|-------------------------|---------------------|--------------------|
| Polawax [®] | Emulsifying Wax NF | 12% |
| Tween 80 [®] | Polysorbate 80 | 4% |
| Silicone SF | Cyclomethicone | 1% |
| Miristato de isopropila | Isopropyl Myristate | 2% |

Fase aquosa:

| COMPONENTE | INCI NAME | CONCENTRAÇÃO (m/m) |
|-----------------|------------------|--------------------|
| EDTA | Disodium EDTA | 0,01% |
| Propilenoglicol | Propylene Glycol | 10% |
| Fenoxietanol | Phenoxyethanol | 0,25% |
| Água destilada | Aqua | q.s.p. |

Todas os fotoprotetores desenvolvidos com as formulações apresentadas nos Quadros 2, 3, 4 e 5, foram submetidas a ensaios de pH, microscopia, macroscopia, organolépticos e teste de centrífuga. Desta forma, pode-se selecionar a melhor pré-dispersão e o melhor creme base, obtendo-se uma formulação final estável e com boas características. Após eleito o creme base ideal, utilizamos a formulação base da melhor pré-dispersão e apenas variou-se os filtros. Desta forma, 5 novas pré-dispersões finais foram obtidas.

A Tabela 3 apresenta a formulação do creme base final e a Tabela 4 a composição final das pré-dispersões.

Tabela 3 – Composição do creme base final e suas respectivas quantidades e funções dos ingredientes

| COMPONENTES | INCI NAME | QUANTIDADE (%) | FUNÇÃO |
|---------------------------|---------------------|----------------|----------------------------|
| <i>Fase Oleosa</i> | | | |
| Polawax [®] | Emulsifying Wax NF | 12% | Cera auto emulsionante |
| Tween 80 [®] | Polysorbate 80 | 4% | Co-emulsionante não-iônico |
| Silicone SF volátil | Cyclomethicone | 1% | Formador de filme |
| Miristato de isopropila | Isopropyl Myristate | 2% | Emoliente |
| <i>Fase Aquosa</i> | | | |
| EDTA | Disodium EDTA | 0,01% | Quelante |
| Propilenoglicol | Propylene Glycol | 10% | Umectante |
| Fenoxietanol | Phenoxyethanol | 0,25% | Conservante |
| Água destilada | Aqua | q.s.p. | Veículo |

O creme-base final preparado resultou em uma emulsão O/A de aspecto homogêneo, brilhante, branco e pouco oleoso. Também apresentou espalhabilidade na pele e viscosidade adequadas, o que é essencial para que o produto forme um filme uniforme sobre a superfície da pele.

A eficiência de um filtro solar incorporado numa emulsão é influenciada principalmente pelo emulsionante e pelos componentes graxos. Os emulsionantes são capazes de afetar o comportamento da tensão superficial durante a fase de formação da película. Frequentemente, o emulsionante é o único fator que controla o comportamento reológico da emulsão e, conseqüentemente, a distribuição homogênea e completa do sistema de transporte sobre a pele. Essa cobertura uniforme da pele resulta de um perfil reológico ideal alcançado através da escolha correta dos componentes na formulação do creme-base. Os emolientes melhoram a espalhabilidade da formulação na pele e influenciam na capacidade de penetração de fotoprotetores no estrato córneo cuja topografia é bastante irregular. Eles podem modificar a permeabilidade da pele, fazendo com que os filtros solares possam fixar-se melhor, dessa forma, pode-se aumentar a resistência da emulsão à água. Além de conferir hidratação e emoliência à pele, os emolientes são excelentes solubilizantes dos filtros solares orgânicos e podem assegurar a estabilidade do perfil espectrofotométrico dos filtros, principalmente daqueles que atuam na faixa do UVB (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; CHORILLI et al., 2007).

Existem agentes, que embora destituídos de efeito fotoprotetor intrínseco, determinam o aumento do desempenho das formulações contendo filtros solares. A inclusão de silicones confere à formulação um diferencial nos produtos. Eles potencializam o efeito de fotoproteção da pele por possuírem a capacidade de formarem filmes resistentes à água, além de apresentar extrema afinidade pela pele e baixíssima toxicidade, não serem gordurosos, não deixarem resíduos oleosos, fornecendo sensação sedosa e suave à pele, conferindo um toque seco ao produto e apresentando baixa aderência. A concentração geralmente empregada em cosméticos é de 0,1% a 50%, não apresentando problemas de toxicidade ou irritabilidade (O'LENICK, 2000).

O Tween 80[®] é um tensoativo hidrofílico etoxilado, geralmente solúvel ou dispersível em água, utilizado para emulsões óleo em água e solubilização de óleo entre outras funções e possui um EHL (equilíbrio hidrófilo-lipófilo) diferente do Tween 20[®]. Como agente co-emulsionante, o Tween 80[®] promoveu uma melhor redução da tensão interfacial entre os componentes da formulação permitindo a obtenção de uma emulsão mais estável (BAREL, 2001; FLORENCE, 2003 MAPRIC, 2010).

O preparo da pré-dispersão de ZnO micronizado, TiO₂ alumina, ZnO micronizado + TiO₂ alumina e Hidroxiapatita (Tabela 4) resultou em uma dispersão de aspecto viscoso, branco leitoso e inodoro e de fácil incorporação, que teve como finalidade diminuir a agregação das partículas dos filtros inorgânicos. A seleção destes filtros micronizados ao invés da forma convencional se deu por estes produzirem formulações cosmeticamente mais atrativas devido ao menor efeito de branqueamento da pele e sensorial mais agradável. A escolha pelo revestimento com alumina foi definido pela sua capacidade de inibição fotocatalítica dos filtros testados e melhor facilidade de incorporação à emulsão. O miristato de isopropila exerce ação emoliente influenciando na espalhabilidade.

O revestimento de partículas de filtros inorgânicos é uma estratégia bastante utilizada para reduzir o potencial de agregação das partículas, o que, conseqüentemente, reflete na estabilidade física do produto, facilidade de incorporação e sensorial mais agradável (BIC, 2001; GONZÁLEZ, 2008; SCHILLING et al., 2010).

Tabela 4 - Composição final das pré-dispersões com suas respectivas quantidades de ingredientes

| | | PRÉ-DISPERSÕES | | | |
|-------------------|-------------------------|----------------------------|------------------------------------|--|-----------------------|
| | | ZnO micronizado | TiO₂ alumina | ZnO micronizado + TiO₂ alumina | Hidroxiapatita |
| COMPOSIÇÃO | Miristato de isopropila | 49% | 49% | 49% | 49% |
| | Tween 80 [®] | 0,5% | 0,5% | 0,5% | 0,5% |
| | Silicone SF volátil | 0,5% | 0,5% | 0,5% | 0,5% |
| | Filtros | 50% | 50% | 50% * | 50% |

* 25% ZnO e 25% TiO₂ alumina

5.3.2 Influência do método de preparo

As partículas de filtros inorgânicos, quando incorporadas diretamente à emulsão sem a técnica da pré-dispersão formaram vários grumos detectados no microscópio óptico, indicando que a sua dispersão não foi eficaz. Além disso, houve uma considerável instabilidade física do produto observada após o teste de centrifuga.

Os aglomerados (grumos) formados pelos filtros inorgânicos contribuíram ainda para o branqueamento da pele após a aplicação do fotoprotetor. Estas partículas grandes são menos transparentes e absorvem UV de forma menos eficaz (TSUZUKI, 2010).

A modificação na técnica de preparo minimizou a formação de aglomerados de filtros inorgânicos resultando em uma dispersão mais estável.

5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS PROTETORES SOLARES DESENVOLVIDOS

O desenvolvimento de dispersões de filtros inorgânicos consiste em três etapas distintas: molhagem, desaglomeração e estabilização. O processo de molhagem é fundamental

para alcançar uma dispersão estável mais tarde. Se o sólido resiste à molhagem, este passo pode requerer tensoativos em maior quantidade para reduzir a tensão superficial do líquido. Por isso, o uso de uma pré-dispersão melhora o processo de fabricação de forma geral, pois facilita o processo de molhagem e desaglomeração (BIC, 2011).

Conforme mostra a Quadro 6, as formulações preparadas a partir de uma pré-dispersão de filtros inorgânicos em veículo oleoso, e incorporadas posteriormente ao creme-base, tiveram uma melhor incorporação das partículas dos filtros do que quando essas foram acrescentadas diretamente na emulsão.

Foram testadas diversas concentrações de filtros que pudessem ser incorporadas à formulação sem desestabilizá-la. Ao final, a formulação contendo 30% de pré-dispersão, que corresponde a 15% de filtro apresentou resultados sensoriais, físico-químicos e microscópicos melhores que maiores concentrações testadas em estudos anteriores. Ficou evidente que o aumento da concentração do metal desestabiliza a formulação, exigindo modificações de outros componentes empregados.

Conforme mostrado o Quadro 6, as partículas de filtros, quando incorporadas diretamente na emulsão, formaram vários grumos detectados no microscópio óptico, indicando que a sua dispersão não foi eficaz. Além disso, houve uma considerável instabilidade física do produto, demonstrada através da separação de fases, detectada no teste de centrífuga. Os agregados contribuíram, ainda, para o branqueamento da pele após a aplicação do fotoprotetor.

Os protetores solares em que foi realizada a pré-dispersão apresentaram maior estabilidade, melhor sensação na pele e menor incidência de grumos. Este resultado pode ser explicado porque o óxido de zinco em um produto solar típico não existe como cristais individuais (partículas primárias), mas sim agregados de partículas: grupos de duas ou mais partículas primárias que estão unidas de forma irreversível em conjunto durante o processo de fabricação. As partículas primárias não fazem mais do que uma pequena fração do óxido de zinco presente, enquanto que os agregados predominam em uma dispersão quando bem preparados.

Um ponto negativo na utilização de filtros inorgânicos como o ZnO é a tendência em deixar uma película branca sobre a pele, que pode ser esteticamente desagradável. As partículas micronizadas melhoraram o apelo estético das formulações, fazendo o novo produto mais transparente à luz visível, uma vez que não refletem no espectro visível (NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009). Mas é preciso ter cuidado na formulação com partículas micronizadas de filtros inorgânicos, pois quanto menor seu tamanho mais

susceptível ao processo de aglomeração (TANNER, 2006; GONTIJO; PUGLIESI; ARAÚJO, 2009; NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009; RIGANO; GAZZANIGA; RASTRELLI, 2010). Estes aglomerados (grumos) fazem com que as partículas pequenas percam suas propriedades dispersivas sendo menos eficazes na proteção (RIGANO; GAZZANIGA; RASTRELLI, 2010; BIC, 2011) além de contribuírem para o maior branqueamento da pele após a aplicação do fotoprotetor (NEWMAN; STOTLAND; JEFFREY, 2009).

A técnica da pré-dispersão apenas modifica o processo de fabricação, uma vez que se a dispersão não for preparada corretamente, pode haver formação de grupos de agregados que podem ficar juntos para formar aglomerados de partículas, e os aglomerados são menos transparentes que os agregados, inclusive sendo menos eficazes na proteção UV (TSUZUKI, 2010; BIC, 2011), além de que este fato constitui um inconveniente antiestético. No entanto, pré-dispersões não garantem a estabilidade da fórmula final, mas com base nos resultados obtidos, melhora o processo geral de fabricação do produto.

Os resultados foram favoráveis com a técnica de pré-dispersão, obtendo protetores mais estáveis, com menos efeito de branqueamento, melhor sensação na pele e com menor incidência de grumos que tendem a formar aglomerados, os quais levam o fotoprotetor a apresentar menor proteção UV. O pH manteve-se estável, na faixa de 7,0 a 8,0 em todas as formulações. As amostras se mantiveram estáveis até 60 dias após sua manipulação.

Quadro 6 - Caracterização das diferentes formulações de protetor solar à base de filtros inorgânicos com pré-dispersão e sem pré-dispersão antes do teste de estabilidade preliminar

| ANÁLISES | | FORMULAÇÕES | | | | | | | | |
|---------------------|---------------------------|--|--|--|--|---|--|--|---|--|
| | | CREME BASE | COM PRÉ-DISPERSÃO | | | | SEM PRÉ-DISPERSÃO (CONTROLE) | | | |
| | | | ZnO micro | TiO ₂ alumina | ZnO micro + TiO ₂ alumina | Hidroxiapatita | ZnO micro | TiO ₂ alumina | ZnO micro + TiO ₂ alumina | Hidroxiapatita |
| Aspecto | Macroscópico | Branco homogêneo brilhoso | Branco, homogêneo sem grumos | Branco, homogêneo sem grumos | Branco, homogêneo sem grumos | Branco, homogêneo sem grumos | Branco, homogêneo sem grumos | Branco, homogêneo sem grumos | Branco, homogêneo sem grumos | Branco, homogêneo sem grumos |
| | Microscópico | Sem grumos Sem bolhas de ar Poucas gotículas de óleo | Poucos grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo | Poucos grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo | Poucos grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo | Poucos grumos Poucas bolhas de ar, Sem gotículas de óleo | Vários grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo e | Muitos grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo | Poucos grumos bolhas de ar e gotículas de óleo | Vários grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo |
| pH | | 7,1 | 7,5 | 7,5 | 7,0 | 7,5 | 7,4 | 7,5 | 7,5 | 7,4 |
| Teste de centrifuga | | Não houve separação de fases | Não houve separação de fases | Não houve separação de fases | Não houve separação de fases | Não houve separação de fases | sobrenadante 2mm | sobrenadante 1 mm | sobrenadante e 1,5 mm | Não houve separação de fases |
| Análise sensorial | Espalhabilidade | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | +++ |
| | Absorção | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ | ++ |
| | Sensação pós-aplicação | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | +++ | ++ | ++ | ++ |
| | Ausência de branqueamento | +++ | +++ | +++ | ++ | +++ | + | ++ | ++ | ++ |

+++ Ótimo; ++ Bom; + Regular; - Ruim

5.4.1 Avaliação de estabilidade preliminar com pré-dispersão e sem pré-dispersão

As amostras com pré-dispersão e sem pré-dispersão foram avaliadas ao final do teste de estresse térmico quanto as suas características macroscópicas, microscópicas, organolépticas (aspecto, cor, odor), pH e teste de centrifuga. Concluiu-se que as características das emulsões preparadas a partir de pré-dispersões permaneceram inalteradas sendo consideradas estáveis perante estes parâmetros, e as formulações sem pré-dispersão após teste de centrifuga apresentaram separação de fases maior que a descrita no Quadro 6, salvo a formulação contendo hidroxiapatita que se mostrou estável nos dois métodos de incorporação.

Na centrifugação, a força da gravidade atua sobre a amostra fazendo com que suas partículas se movam no seu interior. O teste de centrifuga produz estresse na amostra, simulando um aumento na força de gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis instabilidades. Essas poderão ser observadas na forma de precipitação, separação de fases, coalescência entre outras. Esse teste é uma ferramenta que permite avaliar, em curto espaço de tempo, possíveis instabilidades físico-químicas da formulação (MORAIS, 2006). Assim pode-se constatar rapidamente a separação das fases sugerindo-nos uma falta de estabilidade nestas formulações.

5.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE ATRAVÉS DE POTENCIAL ZETA E TAMANHO DE PARTÍCULA

Em sequência, as emulsões recentemente preparadas dos fotoprotetores foram caracterizadas quanto aos valores de potencial zeta e tamanho de partículas (Tabela 5).

Conhecer a estabilidade dos produtos com os quais se trabalha é um parâmetro extremamente importante, pois gera dados confiáveis a fim de garantir a segurança e eficácia do produto. Ao medir parâmetros de dispersão que afetam a estabilidade como potencial zeta e tamanho de partícula, os formuladores podem identificar etapas críticas e adequá-las às necessidades e às exigências do produto e do consumidor.

Para um sistema de suspensão, o potencial zeta é um índice importante que reflete a intensidade da força de repulsão entre as partículas e a estabilidade da dispersão. Sua medida é crucial nos controles de estabilidade (LIAO, 2009). As mudanças na carga das partículas podem ser detectadas através da análise deste parâmetro. Quanto maior o potencial zeta, em

módulo, maior a estabilidade do sistema disperso. Alterações no valor do potencial são relevantes apenas quando há mudanças na composição da formulação ou na obtenção da mesma (MORAIS, 2009).

Tabela 5 - Resultado de valores de potencial zeta (pz) e tamanho de partículas de fotoprotetores produzidos com pré-dispersão e sem pré-dispersão (média e desvio padrão, n=3).

| FORMULAÇÕES | POTENCIAL ZETA (mV) | | TAMANHO DE PARTÍCULA(µm) | |
|------------------------------------|---------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
| | SEM PRÉ-DISPERSÃO | COM PRÉ-DISPERSÃO | SEM PRÉ-DISPERSÃO | COM PRÉ-DISPERSÃO |
| ZnO micronizado | -15,4 ± 12,3 | -27,2 ± 19,4 | 3,9 ± 2,1 | 3,2 / 33,0 * |
| TiO ₂ alumina | 8,7 ± 38,0 | 36,0 ± 29,5 | 8,9 ± 9,1 | 1,8 / 30,0 * |
| ZnO micro + TiO ₂ micro | -11,1 ± 10,3 | -36,4 ± 28,5 | 5,3 ± 6,6 | 5,1 / 36,2 * |
| Hidroxiapatita | -82,7 ± 37,7 | -84,2 ± 20,2 | 7,9 ± 7,9 | 5,6 / 39,7 * |

Onde: **pz** = potencial zeta, **mV**= milivolts, **µm**= micrômetros, * Perfil bimodal

Valores de potencial zeta obtidos, entre -30 e -60 mV (em módulo - positivo ou negativo) ou maior indicam equilíbrio eletrostático entre as partículas, sugerindo assim boa estabilidade do sistema e possivelmente uma menor probabilidade de ocorrer o fenômeno da floculação, que envolve a agregação das gotículas dispersas em aglomerados frouxos, dentro da formulação, podendo desestabilizar as mesmas (BUCHMANN, 2001; AULTON, 2005; MORAIS, 2008). A mudança no potencial zeta resulta de uma alteração na carga de superfície ou de adsorção de íons nas superfícies das partículas (ELAKNESWARAN, 2009).

As formulações desenvolvidas a partir de pré-dispersão apresentaram valores de potencial zeta significativamente maiores (em módulo) do que aquelas onde o filtro inorgânico foi incorporado sem uma pré-dispersão. Entretanto, na formulação contendo hidroxiapatita, não houve alteração expressiva do valor de potencial zeta, sugerindo que o material possui boa estabilidade, como já referido (RIGANO, 2010). Isso demonstra que o método de preparo tem pouca influência sobre seu comportamento dentro de um sistema emulsionando. Assim, observou-se através das medidas do potencial zeta que a técnica de pré-dispersão favoreceu grandemente a estabilidade das formulações.

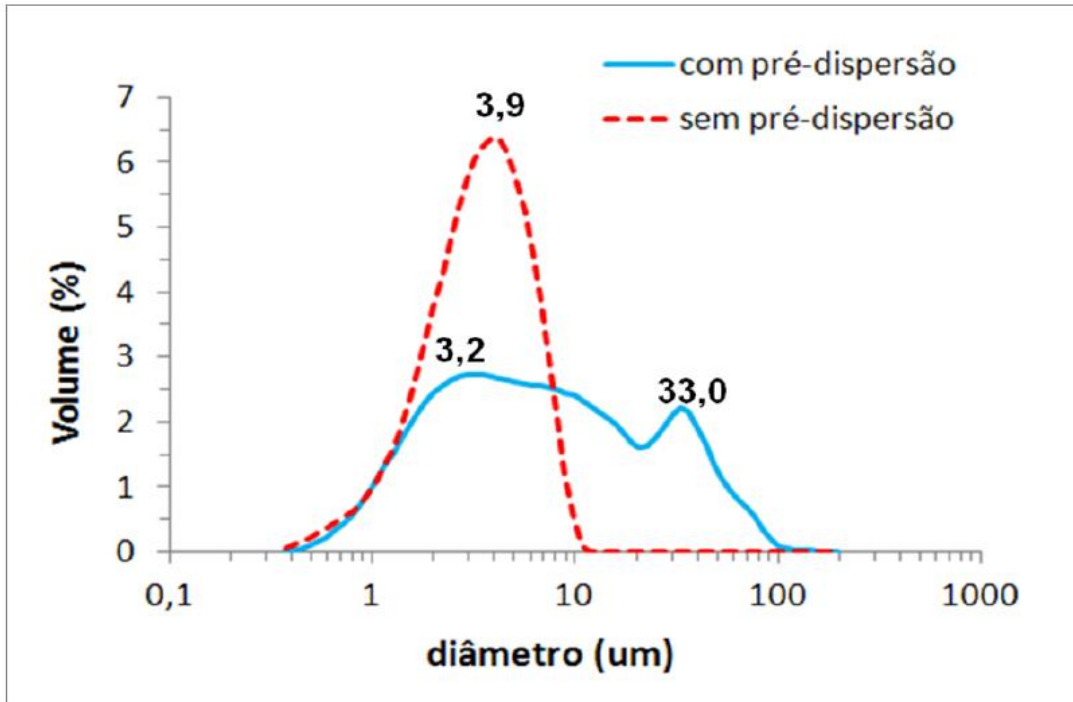
Valores de potencial zeta são alterados em função do pH. Este último, por sua vez, geralmente é modificado em razão da adição de eletrólitos e tensoativos iônicos à emulsão. Como não foi alterada a composição e sim a maneira de dispersar as substâncias, não houve alteração de pH e os valores foram iguais aos descritos no Quadro 6.

O tamanho das partículas de um a emulsão determina a probabilidade da ocorrência de fenômenos como floculação e coalescência, o qual proporciona ao sistema uma desestabilização (TADROS, 2004), geralmente quanto menor o tamanho dos glóbulos, maior a estabilidade do sistema (JEONG; KIM, 2001; MALVERN, 2005; MORAIS 2008).

Tamanho da partícula é uma variável de grande interesse para os fabricantes de revestimentos, devido ao impacto direto sobre a qualidade do produto acabado. Propriedades ópticas, tais como opacidade, tom, aparência da película, e resistência a intempéries, bem como propriedades de massa, incluindo a dispersão e floculação características, e viscosidade, são, até certo ponto, uma função do tamanho das partículas (KIPAXX, 2005). Os resultados apresentados na Tabela 5 indicam que o método de pré-dispersão foi capaz de produzir emulsões mais estáveis, com partículas bem dispersas, de diâmetros satisfatórios, sendo um resultado favorável, indicando que não houve floculação.

A caracterização do tamanho de partículas mostrou que os protetores solares produzidos a partir de uma pré-dispersão apresentaram um perfil bimodal de distribuição, aparecendo como picos de concentração distintos, sugerindo a presença de duas classes de partículas, as finamente divididas e as maiores. Estas últimas podem ser resultado de um pequeno grau de agregação ocorrido, formando aglomerados com tamanhos médios inferiores a 100 μm , os quais foram detectados pela análise de tamanho de partícula. Nos casos dos protetores sem pré-dispersão, os agregados formados apresentaram dimensões muito maiores, conforme comparado pela microscopia ótica, e os quais não puderam ser detectados pelo espalhamento de luz, isto é, agregados maiores que 100 μm . (Figura 17). Desse modo, conclui-se que a técnica de pré-dispersão foi essencial para redução do tamanho das partículas dispersas dos filtros em questão.

Figura 17 – Curvas de distribuição do tamanho de partícula. Características do ZnO micronizado incorporado ao creme base com e sem pré-dispersão.



— perfil bimodal, - - - perfil monomodal.

Vale ressaltar que, diferentemente de uma distribuição monomodal em que todos os pontos centrais se equivalem, numa distribuição bimodal a média, a mediana e a moda são dadas pela soma ponderada dos valores obtidos nos dois picos, gerando um parâmetro bimodal. Dessa forma, assumem um valor arbitrário não representativo, sendo necessária a interpretação independente de cada uma das frações da distribuição, originando dois valores médios, como apresentados na Tabela 5.

5.6 INFLUÊNCIA DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS NA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES DE PROTETORES SOLARES DESENVOLVIDAS

Os ácidos orgânicos aplicados para fins dermato-cosmetológicos são os alfa-hidroxiácidos (AHAs) e o beta-hidroxiácidos (BHAs), que são ácidos não tóxicos, geralmente fracos e obtidos de fontes naturais. Os AHAs costumam ser mais fortes em atuação do que os BHAs visto que estão mais próximos da cadeia principal do ácido (VELASCO, et al, 2004; BURGUESS, 2005)

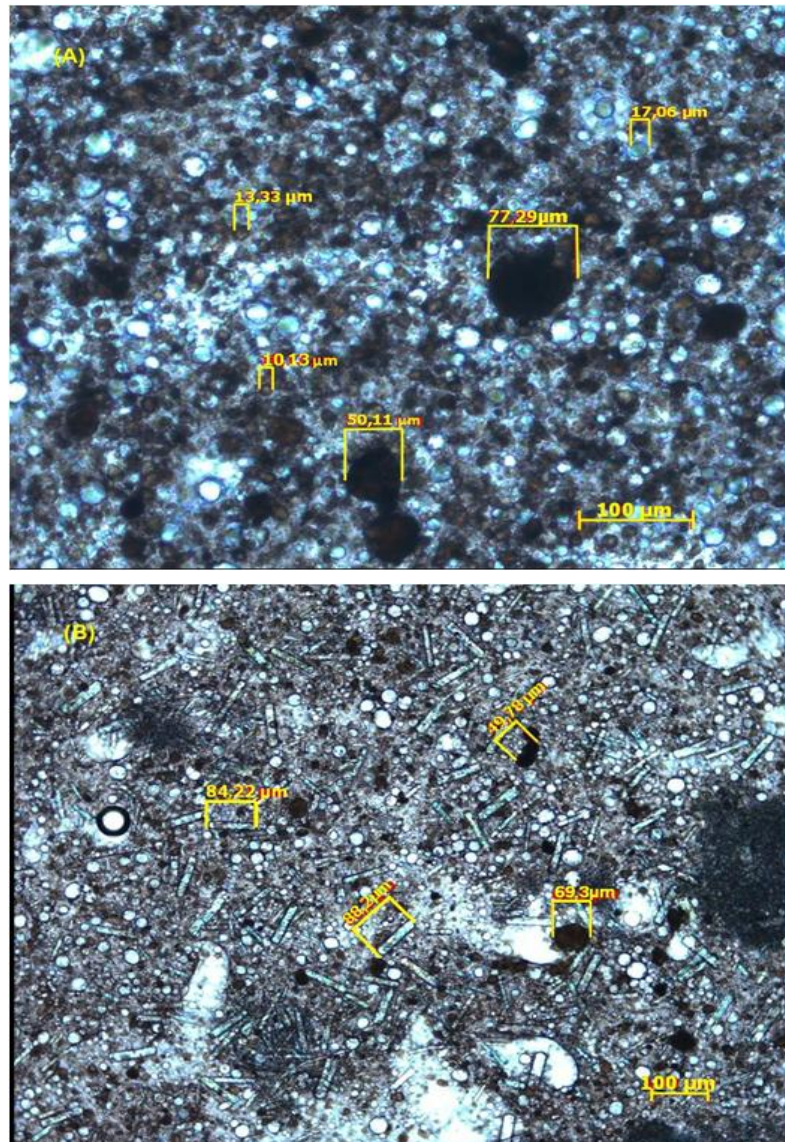
Os AHAs ocorrem naturalmente em frutas, cana-de-açúcar e iogurte e incluem o

ácido glicólico, o ácido láctico, o ácido málico, o ácido tartárico e o ácido cítrico. Existem outros AHAs como o ácido glicérico (ácido di-hidróxi-propiónico), ácido tartrônico (ácido hidróxi-propanodióico), ácido ascórbico, ácido glucônico, ácido mandélico e ácido benzílico. Destes, os mais frequentemente utilizados em cosméticos são o ácido glicólico e o ácido láctico (VELASCO, et al, 2004; BURGUESS, 2005; CHOI, et al, 2006; GAO, et al, 2008). O ácido glicólico pode ser usado como um cuidado diário da pele em produtos de baixas concentrações de 5% a 15%. Maiores concentrações (30% a 70%) são produtos químicos utilizados para o *peeling* no tratamento de pele áspera, acne, manchas e envelhecimento. (NICOLETTI, 2002). O ácido láctico tem sua origem pela fermentação láctea, elimina as células mortas da epiderme, faz parte do fator natural de hidratação da pele (NMF) que eleva o conteúdo de água na epiderme e retarda sua perda para o ambiente, elevando assim sua hidratação, atua como regulador do pH em formulações cosméticas, possui ação clareadora da pele o que o torna muito útil e bastante utilizado como ingrediente ativo (VIEIRA, 2008).

Nos estudos dos excipientes incompatíveis com filtros inorgânicos notou-se em microscopia a presença de cristais decorrentes da interação ZnO com ácido láctico e com ácido glicólico. Nas formulações a base de ZnO a qual acrescentamos 2% de ácido glicólico, houve a formação de cristais observados por microscopia, bem como na formulação que foi adicionado 2% de ácido láctico.

Uma consideração muito importante nas formulações com filtros inorgânicos é o pH. Ele vai afetar principalmente o nível de íons de zinco na fase aquosa de uma emulsão que contenha óxido de zinco e vai se tornar pouco solúvel em pH abaixo de 7,5 com um aumento acentuado em pH abaixo de 7,0. Operações em baixo pH (pH <7) se possível devem ser evitadas pois podem causar o espessamento e /ou instabilidade da emulsão (SPAULDING, 2009). O pH da fase aquosa pode aumentar durante a formulação. O tamponamento do sistema pode ser frequentemente realizado durante o preparo da formulação, utilizando o ácido cítrico, ácido láctico e outros ácidos orgânicos. A adição destes ácidos à fase aquosa antes da emulsificação pode ajudar a estabilizar a emulsão, mas cuidados devem ser tomados para não reduzir o pH abaixo de 7, pois a quantidade de íons de zinco na fase aquosa pode aumentar (SPAULDING, 2009). Porém, como mostra a Figura 18 a adição de ácido láctico mostrou-se incompatível com ZnO onde observa-se que a formação de cristais ocorreu devido à incompatibilidade do ZnO com ácido láctico utilizado para correção do pH da formulação e ausência destes para o protetor solar em pH = 7, apresentando somente grumos.

Figura 18 - (A) Microscopia ótica do protetor solar contendo 15% de ZnO. (B) Microscopia ótica do protetor solar contendo 15% de ZnO com ácido láctico. Aumento: 100X.



A incompatibilidade com ácido glicólico chamou atenção devido à existência de produtos cosméticos e dermatológicos disponíveis no mercado contendo tal substância associada com filtro solar (Quadro 7). Estes produtos são utilizados para clareamento da pele e devido à importância da proteção solar para a eficácia de diversos tratamentos, filtros solares, preferencialmente inorgânicos, estão sendo incluído cada vez mais nestes produtos faciais. Por isso pode levar a incompatibilidades de diversas naturezas com comprometimento da segurança e eficácia do produto, conforme observado nos resultados obtidos.

Quadro 7 - Produtos cosméticos/dermatológicos disponíveis no mercado Brasileiro contendo ácidos orgânicos e filtros solares.

| Nome Comercial | Função | Ativos | Fabricante |
|--|---|--|----------------|
| BI- WHITE [®] | Diminui a concentração de melanina nas células, reduzindo as manchas escuras | Ácido kójico 3% + LHA [®] + FPS 18 | Vichy |
| NEOVADIOL [®] | Indicado para flacidez excessiva e perda do contorno do rosto e manchas. Ação ultra-hidratante com filtro solar. | Pro-Xylane [®] concentrado,+ Isobioline [®] + Ceramida White+ LHA [®] e Ácido Kójico+ Água Termal de Vichy.+ FPS 15 | Vichy |
| MELANI-D [®] | Creme despigmentante e nutritivo, para resolver desordens pigmentares por excesso de sol. | Ácido kójico + LHA + FPS 15 | La Roche Posay |
| RENEW CLINICAL LUMINOSITY PRO [®] | Creme clareador para as mãos. | Ácido L-aspártico + FPS 15 | Avon |
| KLASSIS [®] | Creme clareador Facial | Ácido glicólico+ Ácido láctico+ Ácido kójico+ Arbutin+ FPS 18 | Theraskin |
| BASE NATURAL LIFTING [®] | Base corretiva que ajuda a controlar a oleosidade natural da pele | Ácido salicílico+ FPS 15 | Dermage |
| GLYQUIN [®] XM | Clareamento gradual de hiperpigmentação da pele, tais como cloasma, melasma, sarda, lentigo senil e outras áreas com hiperpigmentação | Hidroquinona + ácidoGlicólico + Filtros solares | Valeant |

Fonte: Avon, Dermage, La Roche Posay, Theraskin, Valeant, Vichy

5.7 INFLUÊNCIA DE EXCIPIENTES QUE INTERFEREM NO FPS

A fim de desenvolver um produto que apresentasse FPS potencializado e com base no conhecimento de estudos já realizados com ativos que possuem esta capacidade, como o caso da cera de carnaúba (VILLALOBOS, 2006). Foram desenvolvidas formulações adicionando manteiga de karité, a qual é formada basicamente por triglicérides de ácidos graxos e potencialmente usada na indústria cosmética para os cuidados com a pele devido ao seu poder altamente hidratante e emoliente, além de concentrar ésteres de ácido cinâmico, que possuem a capacidade de absorver radiação UVB, tornando o produto mais potente, resistente a água e estável (FREITAS 2005).

As formulações contendo manteiga de karité foram desenvolvidas segundo o método descrito no item 4.4.3 e os resultados da caracterização físico-química (Quadro 8 e 9) apresentaram análises sensoriais satisfatórias, mas houve uma considerável separação de fases no teste de centrifuga, indicando desestabilização da formulação. A fim de corrigir este inconveniente, foram preparadas novas formulações com menor quantidade de manteiga de karité; a separação de fases ocorreu, mas de forma menos significativa.

Quadro 8 – Caracterização das formulações de protetor solar à base de ZnO eTiO₂ alumina contendo manteiga de karité em diferentes concentrações antes do teste de estabilidade preliminar

| FORMULAÇÕES COM MANTEIGA DE KARITÉ | | | | | | | |
|------------------------------------|------------------------|--|--|--|--|--|--|
| ANÁLISES | | ZnO micronizado | | | TiO ₂ alumina | | |
| | | 0% | 16,4% | 24,5% | 0% | 16,4% | 24,5% |
| Aspecto | Macroscópico | Branco, homogêneo, com grumos | Branco, homogêneo, com grumos | Branco homogêneo, sem grumos | Branco, homogêneo, com grumos | Branco, homogêneo, com grumos | Branco, não homogêneo, sem grumos |
| | Microscópico | Poucos grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo | Poucos grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo | Muitos grumos Poucas bolhas de ar, muitas gotículas de óleo | Muitos grumos Poucas bolhas de ar, muitas gotículas de óleo | Muitos grumos Poucas bolhas de ar, muitas gotículas de óleo | Muitos grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo |
| pH | | 7,5 | 7,8 | 7,5 | 7,5 | 4,9 | 7,0 |
| Teste de centrífuga | | Não houve separação de fases | Formação de sobrenadante de 1mm | Houve separação de fases (4) sobrenadante de 3mm | Não houve separação de fases | Houve separação de fases (4) | Houve separação de fases (4) |
| Análise sensorial | Espalhabilidade | +++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | Absorção | ++ | ++ | +++ | ++ | +++ | +++ |
| | Sensação pós-aplicação | ++ | + | ++ | ++ | +++ | +++ |
| | Branqueamento | +++ | + | +++ | +++ | +++ | ++ |

+++ Ótimo; ++ Bom; + Regular; - Ruim

Quadro 9 – Caracterização das formulações de protetor solar à base de filtros hidroxiapatita contendo manteiga de karité em diferentes concentrações antes do teste de estabilidade preliminar

| FORMULAÇÕES COM MANTEIGA DE KARITÉ | | | | |
|---|-------------------------------|--|--|---|
| ANÁLISES | | Hidroxiapatita | | |
| | | 0% | 16,4% | 24,5% |
| Aspecto | Macroscópico | Branco, homogêneo, com grumos | Branco, homogêneo, com grumos | Branco homogêneo, sem grumos |
| | Microscópico | Poucos grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo | Poucos grumos Poucas bolhas de ar e gotículas de óleo | Poucos grumos Poucas bolhas de ar e pequenas gotículas de óleo |
| pH | | 7,5 | 9,0 | 8,0 |
| Teste de centrífuga | | Não houve separação de fases | Houve separação de fases com formação de sobrenadante de 2mm | Houve separação de fases, sobrenadante de 2mm |
| Análise sensorial | Espalhabilidade | +++ | ++ | +++ |
| | Absorção | ++ | ++ | +++ |
| | Sensação pós-aplicação | ++ | ++ | +++ |
| | Branqueamento | +++ | ++ | +++ |

+++ Ótimo; ++ Bom; + Regular; - Ruim

5.8 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES CONTENDO MANTEIGA DE KARITÉ

Todas as análises de caracterização físico-química foram repetidas após teste de estabilidade preliminar. As características macroscópicas das formulações contendo manteiga de karité foram alteradas antes de completar os 12 dias de estresse térmico e comprovadas com o teste de centrífuga

O acompanhamento dos valores de pH durante o estudo de estabilidade fornece informações a respeito da estabilidade química da formulação, ou seja, decréscimos desses valores podem estar relacionados à oxidação da fase oleosa com a formação de cadeias oxidadas ou ainda a hidrólise de triglicerídeos, manifestada pela formação de ácidos graxos livres (VELASCO, 2002).

Foi encontrada diferença nos valores de pH antes e após estresse térmico principalmente nas formulações que continham maiores quantidades de manteiga de karité. (Tabela 6)

Tabela 6 - Resultados dos valores de pH, antes e após o teste de estabilidade preliminar das formulações contendo manteiga de karité em diferentes concentrações.

| FORMULAÇÕES | 16,4% Manteiga Karité | | 24,5 % Manteiga Karité | |
|--------------------------|-----------------------|------------------|------------------------|------------------|
| | ANTES | DEPOIS | ANTES | DEPOIS |
| | Estresse térmico | Estresse térmico | Estresse térmico | Estresse térmico |
| ZnO micronizado | 7,8 | 7,8 | 7,5 | 7,9 |
| TiO ₂ alumina | 4,9 | 5,3 | 7,0 | 5,0 |
| Hidroxiapatita | 9,0 | 9,8 | 8,0 | 9,8 |

Se o pH da dispersão é abaixo de 4 ou acima de 8 não há carga suficiente para conferir estabilidade. No entanto, se o pH do sistema é entre 4 e 8 a dispersão pode ser instável. Isso é mais provável ser o caso em torno de pH 6 (ELAKNESWARAN; NAWA; KURUMISAWA, 2009; LIAO; WU; LIAO, 2009)

Potencial zeta e tamanho de partículas foram medidos nas formulações contendo manteiga de karité a fim de complementar o estudo de estabilidade. Os resultados

apresentados na Tabela 7 mostram que de uma maneira geral as formulações contendo manteiga de karité, principalmente as que continham 16,4% da substância apresentaram valores de potencial zeta satisfatórios (entre -30 e -60 mV) principalmente se comparados com o controle que não continha manteiga de karité.

O tamanho das partículas diminuiu com a menor quantidade de manteiga de karité, demonstrando que nesta concentração as amostras se mantiveram mais estáveis. Entretanto, como as emulsões não são definidas como estáveis ou instáveis apenas com estes dados e sim com outras características físico-químicas (Quadro 8 e 9), que indiquem que há ou não desestabilização do sistema emulsionado, os estudos apresentados de estabilidade demonstraram instabilidade do sistema emulsionado provavelmente devido a sua composição ser em grande parte por ácidos graxos livres, podendo sofrer degradação de cadeia longa de ácidos graxos durante o processamento resultando em uma instabilidade do sistema (BAIL, 2009).

Tabela 7 - Resultado de valores de potencial zeta e tamanho de partículas de fotoprotetores produzidos com manteiga de karité.

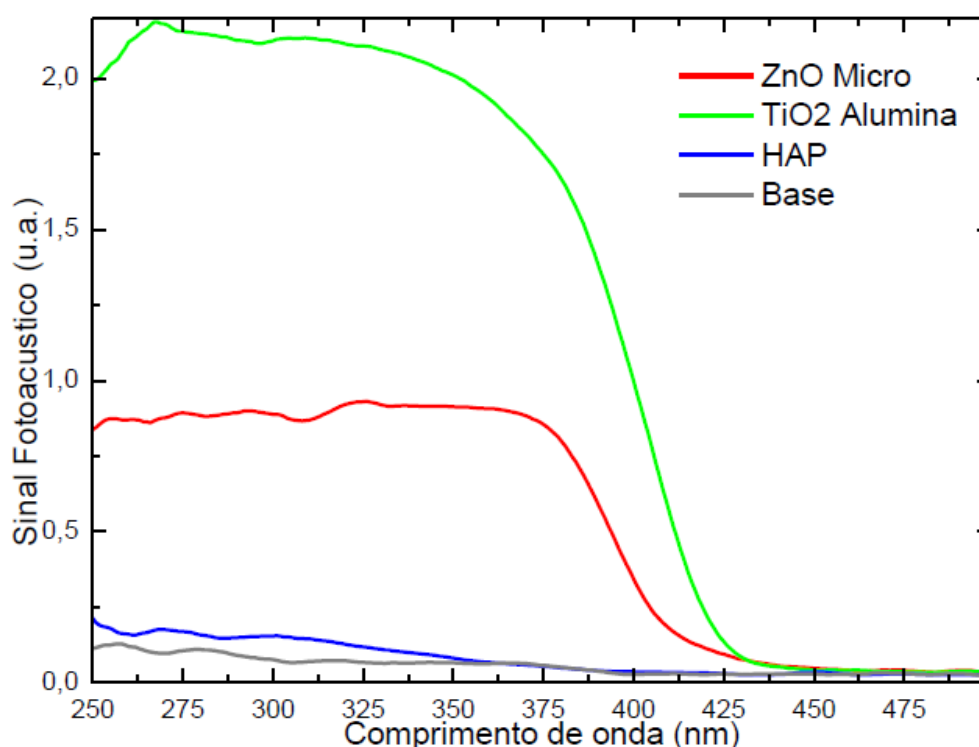
| Manteiga de Karité | ZnO micronizado | | | TiO ₂ Alumina | | | Hidroxiapatita | | |
|------------------------|-----------------|-------|-------|--------------------------|-------|-------|----------------|-------|-------|
| | 0% (controle) | 16,4% | 24,5% | 0% (controle) | 16,4% | 24,5% | 0% (controle) | 16,4% | 24,5% |
| pz (mV) | -27,2 | -56,9 | -46,2 | 36,0 | -5,42 | 14,3 | -84,2 | -75,0 | -67,3 |
| Tamanho Partícula (µm) | 3,2 | 16,12 | 25,55 | 13,5 | 13,95 | 13,77 | 6,2 | 29,42 | 32,34 |

5.9 ESTUDO DE ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA

A técnica fotoacústica permite o uso de propriedades ópticas e térmicas de materiais através da análise do sinal produzido pela absorção de luz modulada por uma amostra (ROSENCWAIG; GERSH, 1976).

Neste estudo foram realizadas medidas preliminares (Figura 19) para obtenção do espectro fotoacústico de absorção dos filtros solares ZnO micronizado, TiO₂ revestido com alumina e HAP, bem como do creme base. Observa-se na Figura 18 que os filtros inorgânicos medidos absorvem na faixa desejada do UVB (290-320 nm) a UVA (320-400 nm), sendo o TiO₂ alumina o filtro que produz maior intensidade de sinal fotoacústico, indicando maior absorção da luz UV por este material quando comparado com ZnO micronizado. A HAP apresentou um baixo sinal fotoacústico, o que possivelmente confirma a necessidade de inserção de pelo menos um metal que possa melhorar esta absorção da luz UV pela HAP (RIGANO; GAZZANIGA; RASTRELLI, 2010). O creme base não apresentou sinal fotoacústico.

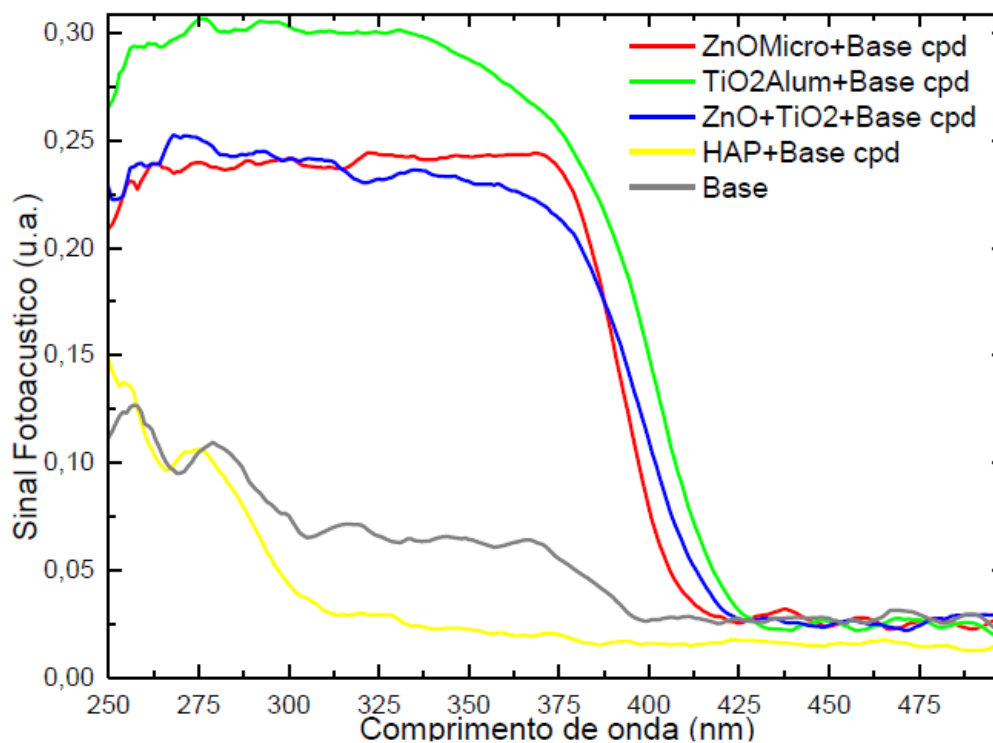
Figura 19 – Espectro fotoacústico de absorção dos filtros inorgânicos ZnO, TiO₂ alumina, HAP e do creme base.



A Figura 20 apresenta o espectro fotoacústico de absorção dos protetores solares desenvolvidos a partir de uma pré-dispersão de filtros inorgânicos. O espectro mostra que os protetores desenvolvidos foram eficazes num amplo intervalo de comprimento de onda, incluindo UVB e UVA, e somente apresentam queda a partir de 400 nm. Esta proteção ampla é característica dos filtros inorgânicos. O fotoprotetor desenvolvido com TiO₂ alumina

apresentou melhor resultado quanto à absorção de radiação, e a associação do TiO_2 e ZnO não potencializou a absorção de UV.

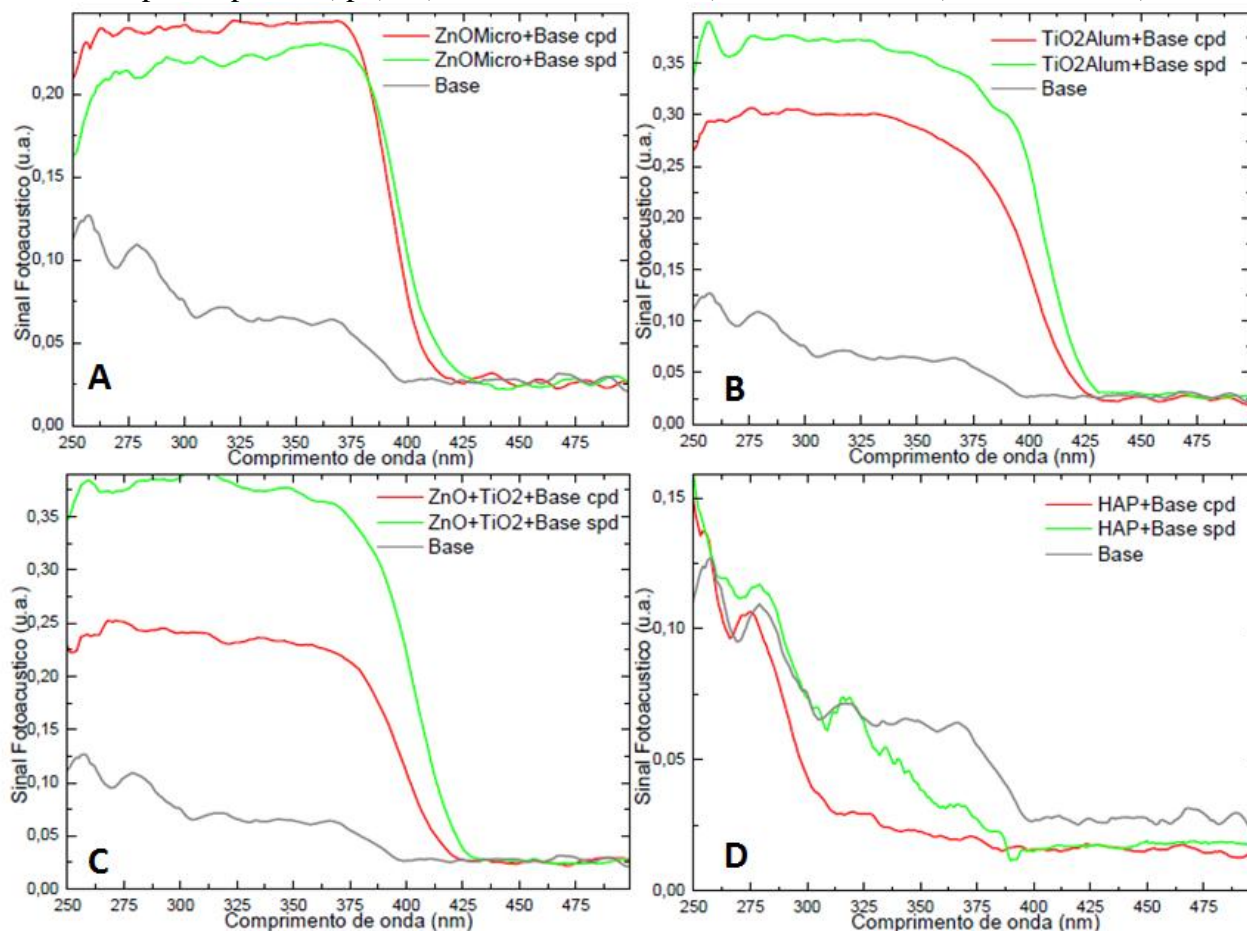
Figura 20 – Espectro fotoacústico de absorção dos protetores solares desenvolvidos com pré-dispersão.



A Figura 21 apresenta os espectros fotoacústicos de absorção dos protetores solares desenvolvidos com os filtros inorgânicos já mencionados, e que foram preparados a partir de uma pré-dispersão e pelo método convencional. Observa-se na Figura 21 (A) que o fotoprotetor à base de ZnO apresentou melhor resultado de absorção UV quando desenvolvido a partir de uma pré-dispersão do que a amostra preparada pelo método convencional, apoiando a idéia de que a técnica da pré-dispersão contribui para melhores resultados do produto final. Por outro lado, o mesmo não ocorre para o TiO_2 , o qual apresenta um decréscimo de absorbância com a técnica de pré-dispersão.

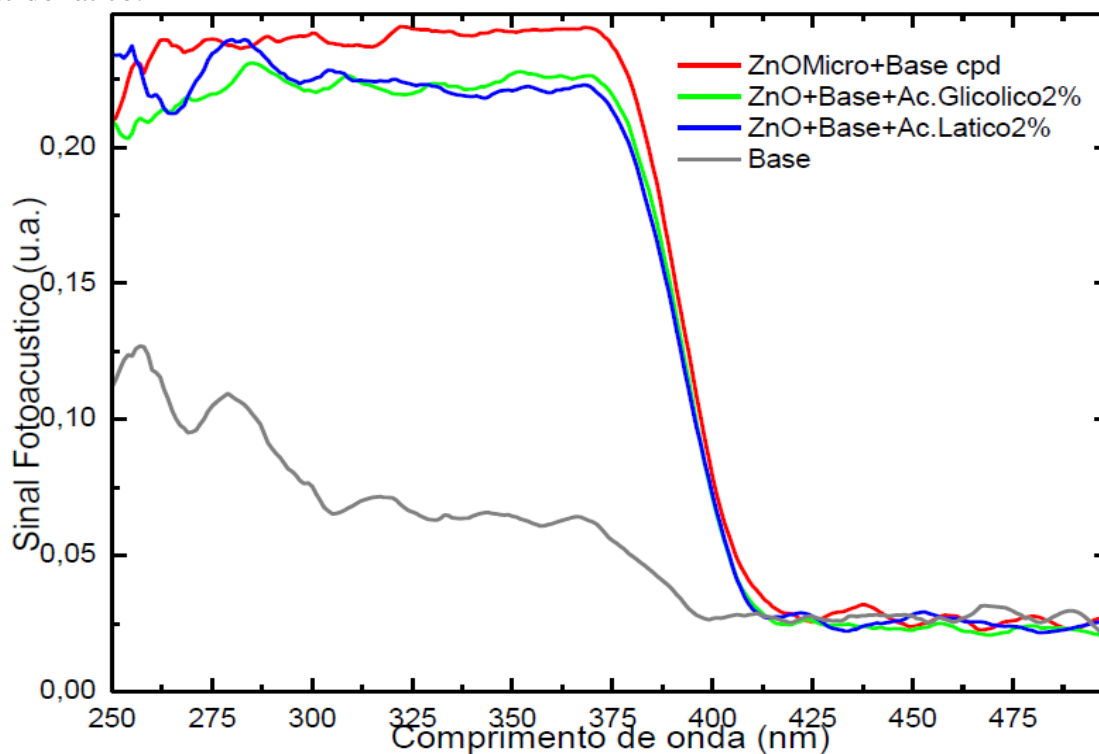
Como mostra a Figura 21 (D) a absorção da radiação tem um declínio, conforme aumenta o comprimento de onda, absorvendo pouco ou quase nada na região do UVA (320-400 nm).

Figura 21 – Espectro fotoacústico de absorção dos protetores solares desenvolvidos com (cpd) e sem pré-dispersão (spd). A) ZnO micronizado; B) TiO₂ alumina; C) ZnO+TiO₂; D) HAP.



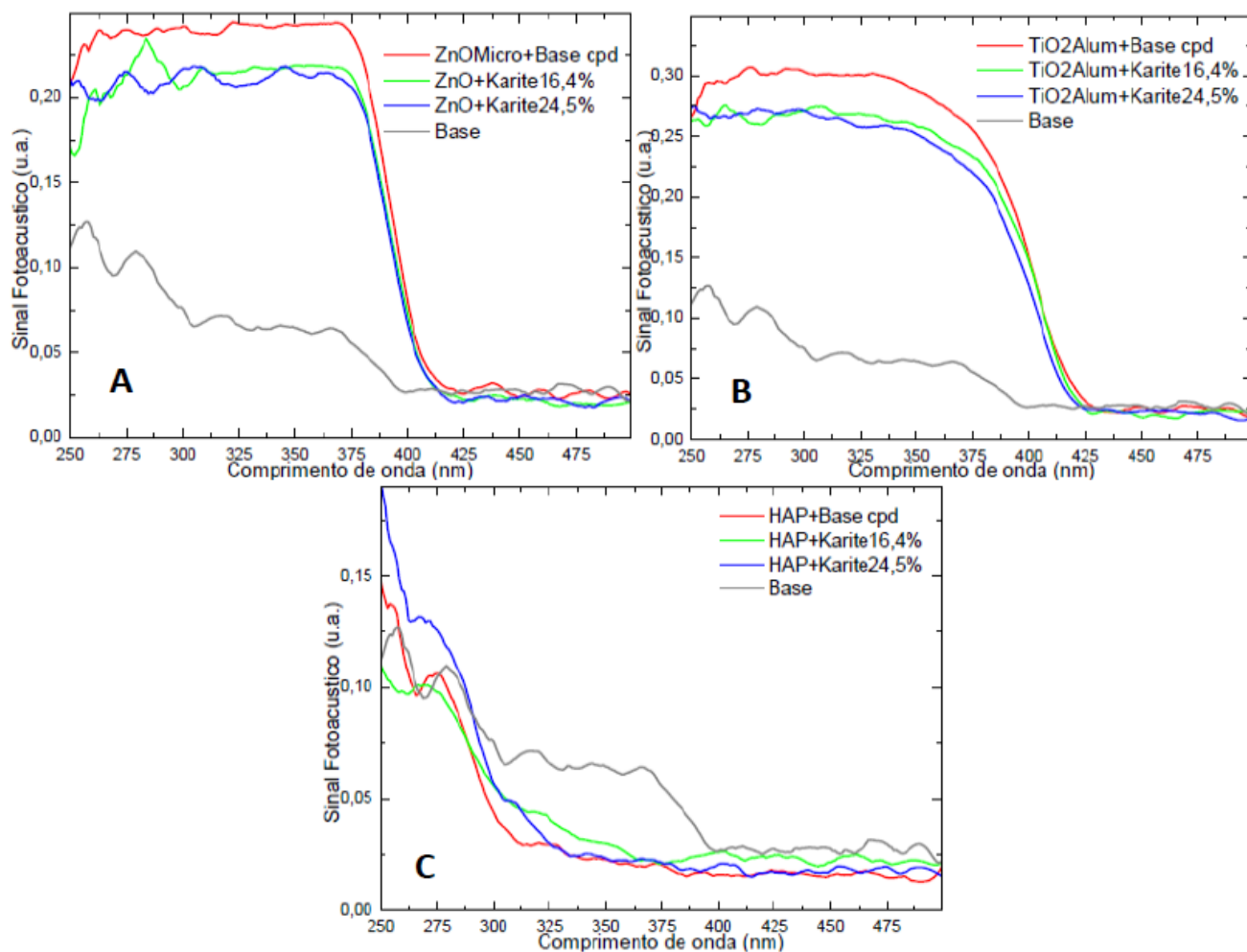
A presença de ácidos orgânicos (glicólico e láctico) nas formulações de fotoprotetores a base de ZnO diminuiu a capacidade de absorção da luz UV como demonstra a Figura 22, corroborando a incompatibilidade descrita nos resultados anteriores, afetando, dessa forma, não só a estabilidade, bem como a eficácia do produto.

Figura 22 – Espectro fotoacústico de absorção dos protetores solares contendo ácido glicólico e ácido láctico.



A Figura 23(A) e 23(B) mostra que a presença da manteiga de karité nas formulações não contribuiu para o aumento de absorção da radiação UV. O fotoprotetor à base de HAP contendo manteiga de karité também não apresentou resultados satisfatórios em relação a absorção de radiação tendo um declínio, conforme aumenta o comprimento de onda, absorvendo melhor na região do UVC (100-280nm). Este resultado pode ser explicado pela desestabilização do sistema, causada pela manteiga de karité, principalmente pelo aumento no tamanho de partículas.

Figura 23 – Espectro fotoacústico de absorção dos protetores solares contendo Manteiga de karité em diferentes concentrações. A) ZnO micronizado; B) TiO₂ Alumina; C) Hidroxiapatita.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram as seguintes conclusões:

- ✓ Os filtros inorgânicos apresentaram atividade fotocatalítica distintas, dependendo da radiação UV utilizada.
- ✓ Dentre os filtros estudados, a HAP foi a que apresentou o menor risco biológico em termos de atividade fotocatalítica.
- ✓ Comprovando a hipótese estabelecida, alguns ácidos orgânicos utilizados em formulações cosméticas e dermatológicas, mais especificamente os ácidos láctico e glicólico, apresentaram incompatibilidades com o ZnO.
- ✓ Por meio dos estudos de potencial zeta, tamanho de partícula, microscopia e estabilidade, foi possível comprovar que, não só os excipientes, mas também o método de preparo são de fundamental importância para obtenção de formulações físico quimicamente estáveis.
- ✓ A HAP apresentou características promissoras quanto à sua aplicação em produtos fotoprotetores, devido à sua baixa reatividade e estabilidade física.
- ✓ A técnica fotoacústica permitiu a obtenção do espectro de absorção dos protetores solares desenvolvidos, onde foi possível verificar que os produtos apresentaram absorção efetiva na região do UVB e UVA conforme características dos filtros inorgânicos.
- ✓ Também foi possível concluir que a absorção da luz UV pelo ZnO é favorecida pela técnica da pré- dispersão, seguido do TiO₂ e por último a HAP.

Ressalta-se a importância da continuação dos estudos nesta linha de pesquisa, pois parâmetros como método de incorporação dos princípios ativos, seleção adequada dos componentes de formulação, estabilidade e segurança do produto devem ser constantemente aprimorados, posto que diariamente são lançados no mercado novos componentes farmacotécnicos, exigindo-se assim o conhecimento aprofundado das características físico-químicas de uma extensa gama de matérias-primas, além do aperfeiçoamento das técnicas de preparo dos sistemas emulsionados, a fim de se obter, acima de tudo, um produto com baixo potencial de risco biológico e alto FPS.

REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

ANTARIA, ZinClear IM. nº US79080306. Fev, 2010.

ARAÚJO, T. S.; LIMA. T.A.R.M.; VALÉRIO, E.M.G. Estudo Espectroscópico de Fe^{3+} em Hidroxiapatita para Aplicações como Filtros Solares. **Scientia Plena**, v.3, n. 7, p. 285-291, 2007.

ARAÚJO, T.S.; SOUZA. S.O. Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta. **Scientia Plena**, v. 4, n.11, p. 114, 2008.

ARAÚJO, T. S. de ; SOUZA, S. O. de.; SOUSA, E. M. B. Effect of Zn^{2+} , Fe^{2+} and Cr^{3+} addition to hydroxyapatite for its application as an active constituent of sunscreens. **J of Physics: Conference Series**. v. 249, n.3, p. 1-7, 2010.

AULTON, M.C. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 99-364.

AVON - Disponível em:< <http://www.br.avon.com>>. Acesso em 15 jan. 2011.

BANKER, G.S.; RHODES, C.T. **Modern Pharm**. 5 ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p.266-268.

BAREL, A.O.; PAYE, M.; MAIBACH, H.I. **Handbook of Cosmetic Science and Technology**. 2nd edition, Marcel Dekker, New York, 2001.

BATISTA, T.S.A. **Desenvolvimento de nanomateriais absorvedores no ultravioleta para aplicação em filtros solares**. 111f. Tese (Doutorado em Física) – Setor de Física, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2010.

BIC- Brookhaven Instruments Corporation. **Particle size distribution is key to new high-performance UV absorbers**. 10/08/2001. Disponível em: <www.bic.com/literature/pdf/BI-XDC/UVAbsorbersXDC.pdf> Acesso em: 07 fev. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 237 de 22 de agosto de 2002. Aprova **Regulamento Técnico Sobre Protetores Solares em Cosméticos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 ago. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília: ANVISA, 2004. p.21-22.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 47 de 16 de março de 2006. Aprova o Regulamento Técnico "**Lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes**". Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 17 mar. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência Geral de cosméticos. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. Brasília, 2007.

BRAYNER, R. The toxicological impact of nanoparticles. **Nanotoday**. v. 3, p. 48-55, 2008.

BUCHMANN, S. Main Cosmetic Vehicles. In: BAREL, A.O.; PAYE, M.; MAIBACH, H.I. (eds). **Handbook of Cosmetic Science and Technology**. 2ª edição. Nova York: Marcell Dekker Inc, 2001. p. 145-169.

BURNETT, M. E.; WANG, S. Q. Current sunscreens controversies: a critical review. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**. v. 27, p. 58–67, 2011.

CAI, K.Y.; FRANT, M.; BOSSERT, J.; HILDBRAND, G.; LIEFEITH, K.; JANDT, K.D. Surface functionalized titanium thin films: zeta potential, protein adsorption and cell proliferation, **Colloids Surf B Biointerfaces**, n.50, p.1-8, 2006

CERRUTI, B.M. **Biomacromoléculas carboximetiladas: Atuação como agentes de estabilização de suspensões aquosas de alumina**. Tese (Doutorado em Ciências) – setor de Físico-Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

CHORILLI, M.; UDO, M.S.; CAVALLINI, M.E.; LEONARDI, G.R. Desenvolvimento e estudos preliminares de estabilidade de formulações fotoprotetoras contendo Granlux GAI-45 TS. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. Piracicaba- SP. v. 27, n. 3, p. 237 – 246, 2007.

CHOW, C.K. Antioxidant nutrients and environmental health: Introduction. **Toxicol**, v.180, n.1, p.1-3. 2002.

COLEMAN, V.A.; JAGADISH, C. Basic Properties and Applications of ZnO. Zinc Oxide Bulk, Thin Films and Nanostructures, **Elsevier Science Ltd**, Oxford, p.1-20, 2006.

COSMETIC INFO – Disponível em: <<http://www.cosmeticsinfo.org/>>Acesso em: 17 mai.2011.

DERMAGE- Disponível em:< <http://www.dermage.com.br/Rosto/Tratamento>>Acesso em 15 jan. 2011.

DLS. Disponível em: < <http://www.microtrac.com/dynamicsscattering.cfm>>. Acesso em 05 dez.2011.

DUNFORD, R.; SALINARO, A.; CAI, L.; SERPONE, N.; HORIKOSHI, S.; HIDAKA, H.; KNOWLAND, H. Chemical oxidation and DNA damage catalysed by inorganic sunscreen ingredients. **FEBS Lett.** v. 418, p. 87-90, 1997.

EL-BOURY, S.; COUTEAU, C.; BOULANDE, L.; PAPARIS, E.; COIFFARD, L.J. Effect of the combination of organic and inorganic filters on the Sun Protection Factor (SPF) determined by in vitro method. **Int J Pharm.** v. 340(1-2), p. 1-5, 2007.

ELAKNESWARAN, Y.; NAWA, T.; KURUMISAWA, K. Zeta potential study of paste blends with slag, **Cement Concrete Comp**, v. 31, n. 1, p.72-76, 2009.

FREITAS, Z. M. F. de SANTOS, E. P. dos; ROCHA, J. F.da; DELLAMORA-ORTIZ, G.; GONÇALVES, J. C. S.. A new sunscreen of the cinnamate class: Synthesis and enzymatic hydrolysis evaluation of glyceryl esters of p-methoxycinnamic acid. **Eur J Pharm Sci**, v. 25, n.1, p. 67-72, 2005.

FILHO, R.B.S. **Estudo de caracterização de rotas de síntese de Dióxido de Titânio.** Dissertação (Mestrado Química Orgânica)- Universidade de São Paulo- Instituto de Química, 2007.

FLOR, J. ; DAVOLOS, M.R.; CORREA, M.A. Protetores solares. **Química Nova.** v.30, nº1, p.153-158, 2007.

FLORENCE, A. T., ATTWOOD, D. **Princípios Físico-Químicos em Farmácia**,1ª Ed., Editora Edusp, São Paulo, 2003.

FORESTIER, S. Rationale for sunscreen development. **J Am Acad Dermatol**, v. 58, n. 5, p.133-138, 2008.

FUJISHIMA, A. RAO, T.N.; TRYK, D.A. Titanium dioxide photocatalysis. **J. Photochem. Photobiol,Rev.** v. 1, p. 1-21, 2000.

GAMER, A.O.; LEIBOLD, E.; RAVENZWAAY, B.V. The in vitro absorption of microfine zinc oxide and titanium dioxide through porcine skin. **Toxicol Vitro**, v. 20, n. 3, p.301-307, 2006.

GODDARD, D.E.; GRUBER, J.V. **Principles of Polymer Science and Technology in Cosmetics and Personal Care.** 22º ed. New York: Marcel Dekke., cap.3-7, 1999.

GONTIJO, T. G.; PUGLIESI, M.C.C; ARAÚJO,F.M. Fotoproteção. **Surgical e Cosmetic Dermatol**, vol.1(4), p. 186-192, 2009.

GONZALEZ, H.; WAHLBERG, N.T.; STRÖMDAHL, B.; JUZENIENE, A.; MOAN, J.; LARKÖ, O.; ROSÉN, A.; WENNERBERG, A. M. Photostability of commercial sunscreens upon sun exposure and irradiation by ultraviolet lamps. **BMC Dermatology**, v.7, n.1, p. 1-9, 2007.

GONZALÉZ, S.; LORENTE, F. M.; CALZADA, Y. G. The latest on skin photoprotection. **Clinics in Dermatology**, v. 26, p. 614-626, 2008.

HIRAKAWA K, MORI M, YOSHIDA M, OIKAWA S, KAWANISHI S. Photo-irradiated titanium dioxide catalyzes. **Free Rad Res**, v.38, n. 237, p.439-47, 2004.

HOFFMANN, M.R.; MARTIN, S.T.; CHOI, W.; BAHNEMANN, D.W., Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis, **Chemical Reviews**. v. 95, p. 69, 1995.

HOJEROVÁ, J; MEDOVČÍKOVÁ, A.; MIKULA, M. Photoprotective efficacy and photostability of fifteen sunscreen products having the same label SPF subjected to natural sunlight. **Int J Pharm**, v.15, n.408, p, 27-38, 2011.

HOUGAARD, K.S.; PETRA, J.; JENSEN, K.; SLOTH, J.; KATRIN, L. ; LARSEN.E.H.; RENI, B.K.; VIBE, A.H.; BOISEN, M. A.; HÅKAN, W.; VOGEL, U. Effects of prenatal exposure to surface-coated nanosized titanium dioxide (UV-Titan). A study in mice. **Part Fibre Toxicol**, v.7, n.16, p. 2-15, 2010.

JAIM, S.K.; JAIM, N.K. Multiparticulate carriers for sun-screening agents. **Int J Cosmet Sci**, v. 32, n.2, p.89-98, 2010.

JEONG, M.W.; OH, S.G.; KIM, Y. C. Effects of amine and amine oxide compounds on the zeta potential of emulsion droplets stabilized by phosphatidylcholine. **Colloids Surf A: Physicochemical and Eng Aspect**, Amsterdam, v. 181, p. 247-253, 2001

JING, L.; XU, Z.; SUN, X.; SHANG, J.; CAI, W. The surface properties and photocatalytic activities of ZnO ultrafine particles. **Appl. Surf. Sci**, v.180, p.308-314, 2001.

JOHNSTON, H.J.; HUTCHISON, G.R.; CHRISTENSEN, F.M.; PETERS, S.; HANKIN, S.; STONE, V. Identification of the mechanisms that drive the toxicity of TiO₂ particulates: the contribution of physicochemical characteristics. **Part Fibre Toxicol**, v.6, n.33, p.1-27, 2009.

KEHRER, J.P.; ROBERTSON, J.D; SMITH, C.V. **Free Radicals and Reactive Oxygen Species**. Comprehensive Toxicology. v.1, n.2, p 277-303, 2010.

KIPPAX, P.; "Measuring Particle Size Using Modern Laser Diffraction Techniques". Artigo da Revista Paint & Coatings Industry. 2005. Disponível em:<[http://www.malvern.com/malvern/kbase.nsf/allbyno/KB000930/\\$file/MRK696-01](http://www.malvern.com/malvern/kbase.nsf/allbyno/KB000930/$file/MRK696-01)>.pdf Acesso em: 14 de junho 2011.

KREILGAARD, M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. **Adv Drug Deliv Rev**, 54 Suppl 1:S77-98, 2002.

KULLAVANIJAYA, P.; LIM, H.W. Photoprotection. **J Am Acad Dermatol**, v. 52, n. 6; p. 937-958, 2005

LA ROCHE POSAY- Disponível em:< <http://www.laroche-posay.com.br> > Acesso em 15 jan.2011

LAWRENCE, M.J; WARISNOICHAROEN, W. Recent Advances in Microemulsions as Drug Delivery Vehicles. In: **Nanoparticulates as Drug Carriers**, p.125-172, 2006.

LIAO, D.L.; WU, G.S.; LIAO, B.Q. Zeta potential of shape-controlled TiO₂ nanoparticles with surfactants, **Colloids Surf A: Physicochemical and Eng Aspect**, v. 348, n.1-3, p.270-275, 2009.

LIMA, I. R. **Efeito do zinco na biocompatibilidade in vitro e in vivo de grânulos zinco-apatita 5% em comparação com a hidroxiapatita** [Rio de Janeiro] 2006 XVI, 93 p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ, M. Sc., Engenharia Metalúrgica e de Materiais, 2006) Dissertação - Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE

LIMA, T.A.R.M. **Propriedades Estruturais e ópticas de Nanomateriais biocompatíveis voltados Para aplicação em filtros solares.** f.126. Dissertação (Mestrado em Física) – Setor de Física, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2010.

MAHATO, R.I. **Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery.** 1^a ed., New York: CRC Press. 2007, p.135-142.

MALVERN INSTRUMENTS (2005). **Pharmaceutical Formulations and The Importance of Zeta Potential to Pharmaceutical Formulations With.** Disponível em: <<http://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=1234>> Acesso em: 01/08/2011.

MAPRIC. **Alcool cetílico.** Disponível em: <<http://www.mapric.com.br>> Acesso em: 26/01/2010.

MERG, J.C.; ROSSETT, F.; PENHA, F.G.; PERGHER, S.B.C. Incorporação de dióxido de titânio em zeólitas para emprego em fotocatalise heterogênea. **Rev. Química Nova**, v.33, n. 07, p.1525-1528, 2010.

MITCHNICK, M.A.; FAIRHURST, D.; PINNELL, S.R. Microfine zinc oxide (Z-Cote) as a photostable UVA/UVB sunblock agent. **J Am Acad Dermatol**, v.40, n.1, p.85-90, 1999.

MIYAHARA, R.Y.; GOUVÊA, D.; TOFFOLI, S.M. Preparation and characterization o bovine bone ash for the fabrication of bone china. **Ceramics Int**, v.53, p.234-239, 2007.

MORAIS, J.M. **Desenvolvimento e Avaliação do processo de obtenção de emulsões múltiplas A/O/A em etapa única empregando óleo de canola e tensoativo não-iônico derivado do óleo de rícino.** f. 216. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Farmácia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

MORE, B. D. Physical sunscreens: on the comeback trail. **Indian J Dermatol Venereol Leprol**, v. 73, p. 80-85, 2007.

MURDOCK, R. C.; BRAYDICH-STOLLE, L.; SCHRAND, A. M., SCHLAGER, J.J.; HUSSAIN S.M. Characterization of Nanomaterial Dispersion in Solution Prior to In Vitro Exposure Using Dynamic Light Scattering Technique. **J. Toxicol. Sci**, 101(2), p. 239–253, 2008.

NAHM, S.H. **Quality Characteristics of West African Shea Butter (Vitellaria paradoxa) and Approaches to Extend Shelf-life.** Master of Science Graduate Program in Food Science, New Brunswick, New Jersey. The State University of New Jersey 1-133, pag 24, 2011.

NAKAGAWA, Y.; WAKURI, S.; SAKAMOTO, K.; TANAKA, N. The photogenotoxicity of titanium dioxide particles. **Mutat Res**. v. 394, p. 125-32, 1997.

NEWMAN, M.D.; STOTLAND, M.; JEFFREY, E. The safety of nanosized particles in titanium dioxide and zinc oxide based sunscreens. **J Am Acad Dermatol**, v.61, n.4, p. 685-692, 2009.

O'LENICK, J.A. Silicones-Basic Chemistry and Selected Applications. **J Surfactants Deterg**, v.3, n.2, p.229-235, 2000.

OTTO, A.; PLESSIS, J.; WIECHERS, J.W. Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery. **J Cosmetic Sci**, v.31, p.1-19, 2009.

PALM, D. M.; O'DONOGHUE, N.M. Update on photoprotection. **Dermatol Ther**, v. 20, p. 360-376, 2007.

RAI, R.; SRINIVAS, C. R. Photoprotection. **Indian J Dermatol Venereol Leprol.**, v. 73, p. 73-79, 2007.

RAJESHWAR, K.; TACCONI, N.R.; CHENTHAMARAKSHAN, C.R. Semiconductor-Based Composite Materials: Preparation, Properties, and Performance. **Chem. Mater**. v.13, n. 9, p. 2765-2782, 2001.

RAMPAUL, A.; PARKIN, I.P.; CRAMER, L.P. Damaging and protective properties of inorganic components of sunscreens applied to cultured human skin cells. **J Photochem. Photobiol. A: Chemistry**, v. 191, n.2-3, p. 138–148, 2007.

REETH, I.V. Beyond skin feel: innovative methods for developing complex sensory profiles with silicones. **J Cosmet Dermatol**, v. 5, p.61-67, 2005.

RIGANO, L.; GAZZANIGA, G.; RASTRELLI, G. Sunscreen product comprising hydroxyapatite as physical filter. n. WO/2010/109400, 30 sept. 2010.

RIBEIRO, C. Cosmetologia Aplicada à Dermoestética. 2 ed. São Paulo, Pharmabooks, 2010.

ROSENCWAIG, A.; GERSHO, A. Theory of the photoacoustic effect with solids. **J Applied Physics**, v. 47, n. 1, p. 64-68, 1976.

ROSENCWAIG, A.; GERSHO, A. Photoacoustic effect with solids: A Theoretical Treatment. **Science**, v. 190, p. 556-557, 1975.

SAATAH, N. A. Global developments in sun care ingredients. **Cosmetics and Toiletries**, v 121, n°6, 2006.

SAMBANDAN, D. R.; RATNER, D. Sunscreen: an overview and update. **J Am Acad Dermatol**, v. 64, n.2, p.748-758, 2011.

SEHN, E.; SILVA, K.C.; RETUCI, V.S.; MEDINA, A.N.; BENTO, A.C.; BAESSO, M.L. Photoacoustic spectroscopy to evaluate the penetration of sunscreens into human skin in vivo: A statistic treatment. **Rev Sci Instrum**, v. 74, p. 758-760, 2003.

SCHILLING, K.; BRADFORD, B.; CASTELLI, D.; DUFOUR, E.J.; NASH, F.; PAPE, W.; SCHULTE, S. Human safety review of “nano” titanium dioxide and zinc oxide. **J Photochem. Photobiol**, v.9, p. 495-509, 2010.

SERPONE, N.; DONDI, D.; ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. **Inorganica Chimica Acta**, v. 360, n. 794–802, 2007.

SGARBI, C.F.; CARMO, D.E.; ROSA, B.E.L. Radiação Ultravioleta e Carcinogênese. **Rev. Ciênc. Med.** v.16, p. 245-250, 2007.

SILVA, S.S.; MAGALHÃES, F.; SANSIVIERO, M.T.C. Nanocompósitos semicondutores ZnO/TiO₂: Testes fotocatalíticos. **Rev. Quim. Nova**, Belo Horizonte, v. 33, n. 1, 85-89, 2010.

SIQUEIRA, N.M. **Desenvolvimento tecnológico e avaliação da penetração cutânea de benzofenona-3 a partir de nanocápsulas revestidas com quitosana**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul de Porto Alegre, 2008.

SIVALINGAM, G.; NAGAVENI, K; HEGDE, M. S.; MADRAS, G.: Photocatalytic

degradation of various dyes by combustion synthesized nano anatase TiO₂. **Appl Catal B: Environ**, v.45, p. 23-38, 2003.

SOUZA, S.R.P.; FISCHER, F.M.; SOUZA, J.M.P. Bronzeamento e risco de melanoma cutâneo: Revisão da Literatura. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, nº4, p. 588-98, 2004.

SPECTRUM. Disponível em: <<http://www.spectrumquimica.com.br/>> Acesso em: 20 jan.2011.

SPAULDING, L.A.; FRONTAURIA, A.R.; SCOTT,P.L. **Enhanced Photoprotective Compositions and methods for the evaluation thereof**.n.61/22,940, 23 jan.2008.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsion **Adv Colloid Interfac Sci**, v. 108, n.9, p.58-227, 2004.

TANNER, P.R.; Sunscreen Product Formulation. **Dermatol Clin**, v. 24, p.53-62, 2006.

THERASKIN NOVAQUÍMICA- Disponível em: <<http://www.theraskin.com.br>> Acesso em:15 jan.2011.

TSUZUKI, T.; TROTTER, G.; BUTLER, L.; CORMIK, P. **Visibly transparent UV photoprotective compositions**. WO/2009/089523, 16 Jul 2009.

UNICHEM, Soluções em Especialidades Químicas. São Paulo, jul. 2010. Disponível em: <<http://www.unichem.com.br/>> Acesso em: 26 jun.2011.

VALEANT- Disponível em: <<http://www.valeant.com/>> Acesso em 15 jan.2011.

VICHY – Disponível em: <<http://www.vichy.com.br/>>Acesso em 15 jan.2011.

VASILJEVIC, D.; PAROJCIC, J.; PRIMORAC, M.; VULETA, G. An investigation into the characteristics and drug release properties of multiple W/O/W emulsion systems containing low concentration of lipophilic polymeric emulsifier. **Int J Pharm**, v. 309, p. 171-177, 2006.

VELASCO J.; DOBARGANES C. Oxidative Stability of Virgin Olive Oil. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** v.104, p. 661-676, 2002.

VILLALOBOS, H.; MULLER, G. C.; Novel nanoparticulate carrier system based on carnauba wax and decyl oleate for the dispersion of inorganic sunscreens in aqueous media. **Eur J Pharm Biopharm.**, 60:113-22, 2005.

VILLALOBOS, H.; MULLER, G. C. Physical stability, centrifugation tests, and entrapment efficiency studies of carnauba wax–decyl oleate nanoparticles used for the dispersion of inorganic sunscreens in aqueous media. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 63, p. 115-127, 2006a.

VILLALOBOS, H.; MULLER, G. C. Sun protection enhancement of titanium dioxide crystals by the use of carnauba wax nanoparticles: the synergistic interaction between organic and inorganic sunscreens at nanoscale. **Eur J Pharm Biopharm**, 322:161-70, 2006b.

VILLALOBOS,H.; MULLER, G.C.; In vitro erythemat UV-A protection factors of inorganic sunscreens distributed inMaqueous media using carnauba wax-decyl oleate nanoparticles. **Eur J Pharm Biopharm**, v.65, p.122, 2007.

WOLF, R.; WOLF, D.; MORGANTI, P.; RUOCCO, V. Sunscreens. **Clinics in Dermatology**, 19:452-459, 2001

WU, J.; LIU, W.; XUE, C.; ZHOU, S.; LAN, F.; BI, L.; XU, H.; YANG, X.; ZENG, F.D. Toxicity and penetration of TiO₂ nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure. **Toxicol Lett**, v. 191, n.1, p.1-8, 2009.

ZHANG, A., -P.; SUN, Y., -P. Photocatalytic killing effect of TiO₂ nanoparticles on Ls-174-t human colon carcinoma cells. **World J. Gastroenterol.** v. 10, n°. 21, p. 3191-3193, 2004.

APÊNDICE

8 APÊNDICE

➤ Resumo e *abstract* do artigo submetido