UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

Avaliação de protetores solares contendo filtros encapsulados/incorporados em matriz de sílica mesoporosa ordenada do tipo SBA-15

André Luis Máximo Daneluti

Tese para obtenção do Título de
DOUTOR

Orientador: Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos
Co-Orientador: Prof. Dr. André Rolim Baby

São Paulo
2018

André Luis Máximo Daneluti

Avaliação de protetores solares contendo filtros encapsulados/incorporados em matriz de sílica mesoporosa ordenada do tipo SBA-15

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do Título de Doutor

Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos
Orientador / Presidente

Prof. Dr. André Rolim Baby
Co-orientador

1º examinador

2º examinador

3º examinador

4º examinador

São Paulo, ____ de _____ de 2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletronico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

D555a

Daneluti, André Luis Máximo
Avaliação de protetores solares contendo filtros encapsulados/incorporados em matriz de sílica mesoporosa ordenada do tipo SBA-15 / André Luis Máximo Daneluti. - São Paulo, 2018.
207 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador: Matos , Jivaldo do Rosario
Coorientador: Baby , Andre Rolim

1. filtros solares. 2. biodistribuição. 3. SBA-15. 4. bastão fotoprotetor. 5. FPS in vitro. I. T. II. Matos , Jivaldo do Rosario , orientador. III. Baby , Andre Rolim, coorientador.

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, ***Laercio e Sônia****, por serem meu alicerce e maiores incentivadores. Não existem palavras para demonstrar meu amor e gratidão!*

A minha querida irmã, ***Cristiane,*** *que considero como uma segunda mãe, e aos meus sobrinhos:* ***Matheus****, meu afilhado e* ***Miguel*** *o sapequina da família.*

Ao meu amado namorado, ***Urs****, pelo amor, cumplicidade, parceria mesmo estando distante todo esse tempo.*

AGRADECIMENTOS

*À **Deus**, **Jesus Cristo**, **Maria**, todos os **Anjos** e **Santos**, pela constante proteção, plenitude e paz de espírito.*

*À minha linda **família**, incluindo a **Shakira** minha fiel escudeira que está comigo há 12 anos, pelo amor, união e muitas alegrias!*

*Ao meu co-orientador, educador e querido amigo, **Prof. Dr. André Rolim Baby**, pelos ensinamentos, crescimento e valores compartilhados. Não apenas um orientador, mas um professor exemplar! Serei eternamente grato!*

*Ao meu orientador **Prof. Dr. Jivaldo do Rosário Matos** pela oportunidade, amizade, pelos ensinamentos compartilhados e que vem me acompanhando desde o mestrado.*

*To **Prof. Dr. Yogeshvar N. Kalia,** for accepting and hosting me as visitor student for almost one year. Thank you so much for sharing your knowledge and expertise.*

*À querida **Profa. Dra. Maria Valéria Robles Velasco** e a **Profa. Dra. Vladi Olga Consiglieri** pela parceria e carinho.*

*À **Profa. Dra. Luci Diva Brocardo Machado** e **Prof. Dr. Marlus Chorilli** pelos valiosos ensinamentos durante o exame de qualificação.*

*A todos os **professores** do Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos, que muito me ensinaram durante as disciplinas, reuniões e representação discente.*

*Aos maravilhosos amigos do LATIG pelo apoio e suporte as horas difíceis: **Roxana, Simone, Cibele, Juliana, Dulce, Luciana e Luiz Cides.***

Em especial a minha querida amiga ***Roxana Lili Roques Flores*** *pelos capuccinos e conversas.*

Ao meu Best friend ***Eduardo Matos*** *por estes mais de dez anos de amizade e cumplicidade.*

A minha segunda mames e amiga do coração ***Maria Helena Carvalho*** *que me acolheu durante os cinco anos em que trabalhamos juntos na Faculdade Oswaldo Cruz.*

Aos meus amigos do Laboratório de Cosmetologia não apenas pelos ensinamentos científicos, mas, principalmente pelos conselhos, alegrias, lágrimas, experiências, carinho e amizade: ***Camila****,* ***Daniela****,* ***Gabriela****,* ***Ingrid****,* ***Michelli****,* ***Thalita****,* ***Thamires****,* ***Nádia, Paulo, Rafael, Mirella, Kássia, Alessandra e Andressa****. Obrigado por tudo!*

Aos amados amigos: ***Carime, Eduardo Machado, Cleiper, Fabíola, Kleber, Tânia, Noêmi, Chris, Juan Carlos, Alexandre e David .***

To all my beloved friends from University of Geneva for the support and understanding: ***Gisela, Si, B árbara, Alice*** *and special for my great friend* ***Yvonne Arnold.***

To all my dear coleagues, professors and employees from Univerdity of Geneva: ***Oscar, Julia, Aristhea, Nathalies, Francesca, Remo, Professor Leonardo Scapozza*** *and* ***all students of FAPIP*** *and* ***FAPER group.*** *Thank you all!*

Aos técnicos e queridos amigos, ***Claudinéia****,* ***Edgar*** *e* ***Luciana*** *pelo apoio e carinho.*

Aos funcionários da FCF-USP: ***David****,* ***Doralice****,* ***Irineu****,* ***Jorge****,* ***Marinalva****,* ***Sueli*** *e em especial a* ***Elaine Midori*** *pela enorme competência e suporte.*

À ***Nádia Rusinic*** *pela amizade e grande ajuda no desenvolvimento e na elaboração dos bastões fotoprotetores.*

*À **Camila Areias e Daniella D'almeida** pela nossa amizade e amparo e pelas valiosas discussões sobre fotoproteção.*

*À **Ingrid Lopes** pela paciência, carinho, competência e enorme ajuda com os ensaios de fotoproteção e fotodegradação. Vejo um futuro brilhante à frente de você!*

*Às empresas **Croda**, **Volp** e **Basf**, pelo fornecimento de amostras.*

*Ao **CNPq**, **CAPES** e **FAPESP** pelos auxílios financeiros, diretos e indiretos, para a realização desta pesquisa.*

*À **Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo** pelo acolhimento, estrutura, ensinamentos, e por ser meu segundo lar nesses 10 anos de formação.*

*Ao aluno **Dr. Francisco Mariano Neto e Prof. Dr. Luis Carlos Cides Silva** pelo apoio na realização dos ensaios de difração de raio X a baixo ângulo e pelas medidas de adsorção de N_2, assim como ao técnico **Antônio Carlos** e a **Profa. Dra. Márcia Fantini** (Instituto de Física-USP).*

*Ao **Prof. Dr. Flávio Machado de Souza Carvalho,** do Instituto de Geociências-USP, pela disponibilização do equipamento de Difratometria de Raio-X (DRX).*

*Ao **Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz**, da FCF-USP, pela disponibilização do equipamento de Difração a Laser.*

E a todos que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!!!

EPÍGRAFE

"Rien ne s'est fait de grand qui ne soit une espérance exagérée."

Jules Verne

"Optimism is the faith that leads to achievement.
Nothing can be done without hope and confidence. "
Helen Keller

RESUMO

DANELUTI, A.L.M. **Avaliação de protetores solares contendo filtros encapsulados/incorporados em matriz de sílica mesoporosa ordenada do tipo SBA-15.** 2018. 207f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Filtros orgânicos são amplamente utilizados em formulações fotoprotetoras, com habilidade de absorver radiações ultravioleta (UV). Contudo, parte destes compostos possuem limitações, como: fotoinstabilidade, permeação cutânea e fotossensibilização e entre outros. Este trabalho envolveu a síntese de matriz mesoporosa do tipo SBA-15, encapsulação/incorporação de *p*-metoxicinamato de octila (MCO), benzofenona-3 (BZF-3) e avobenzona (AVO) na SBA-15 para aplicação em formulações fotoprotetoras. Fez-se a determinação da eficácia i*n vitro* dos filtros encapsulados/incorporados combinados a ingrediente cosmético; o preparo de bastão fotoprotetor e determinação eficácia estimada; a avaliação do potencial de irritação ocular dos bastões por HET-CAM - *Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane*, e a avaliação da permeação/retenção cutânea e perfil de biodistribuição dos filtros. Para a caracterização dos materiais foram empregadas técnicas físico-químicas e analíticas. As medidas de adsorção/dessorção de N_2 mostrou que as amostras dos filtros solares encapsulados/incorporados apresentaram diminuição na área superficial e volume de poro (*V*), indicando que os filtros solares foram encapsulados/incorporados na superfície e nos poros da SBA-15. Os resultados de Espalhamento de raios X a baixo ângulo evidenciaram que os filtros solares não afetaram a estrutura hexagonal da SBA-15. Por TG/DTG e análise elementar foi possível determinar a quantidade de filtros solares na superfície e nos mesoporos da SBA-15. Enquanto, as curvas DSC e DTA revelaram aumento na estabilidade térmica da AVO e BZF-3, quando encapsulados/incorporados. Os resultados da eficácia fotoprotetora *in vitro* monstraram que a combinação dos três filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 promoveram aumento de 52% no fator proteção solar (FPS), enquanto que, na formulação fotoprotetora contendo os três filtros encapsulados/incorporados, o aumento foi de 94%. O ensaio de HET-CAM evidenciou que os bastões contendo SBA-15 e os filtros encapsulados/incorporados não foram irritantes. O ensaio de permeação/retenção cutânea monstrou que o processo de encapsulação/incorporação da BZF-3 promoveu diminuição de sua permeação em todos os tempos de exposição. As quantidades permeadas de AVO e MCO ficaram abaixo do limite de quantificação nos tempos 6 e 12 h, no entanto, no tempo de 24 h foi possível quantificá-los. As quantidades dos filtros solares retidas na pele a partir da formulação contendo os filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 (F4) foram menores (tempos 6 e 12 h) em comparação à formulação contendo os filtros solares não encapsulados (F3). A investigação da biodistribuição dos filtros solares monstrou que a retenção total na pele, como na derme, foi menor na formulação F4 em comparação à F3. O estudo comparativo entre pele suína e a pele humana monstrou que as quantidades de BZF-3 e AVO permeadas e retidas na pele suína foram superiores do que em relação à humana para ambas as formulações (F4 e FR). Pela técnica de biodistribuição, foi possível determinar que os filtros solares oriundos das formulações F3 e referência (FR) apresentaram maior retenção destes compostos na derme do que em outras camadas da pele. Contudo, observou-se que os filtros encapsulados apresentaram taxa reduzida de retenção na derme.

Palavras-chave: filtros solares, fotoproteção, SBA-15, bastão fotoprotetor, FPS *in vitro*, biodistribuição.

ABSTRACT

DANELUTI, A.L.M. **Evaluation of sunscreens containing encapsulated/entrapped UV filters in ordered mesoporous silica type SBA-15.** 2018. 207p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Organic Filters are chemical compounds widely used in sunscreens formulations with the ability to absorb ultraviolet radiation (UV). Despite the effectiveness of these compounds in UV radiation protection, disadvantages related to their photo instability, potential skin permeation and photo sensibility pose significant challenges for improving these products. The aim of this work was to synthesize mesoporous matrix SBA-15, encapsulation/entrapping of octyl methoxycinnamate (OMC), benzophenone-3 (BZF-3) and avobenzone (AVO) into SBA-15 for application in photoprotective formulations. It was accessed in vitro photoprotection efficacy and in vitro photostability assay of encapsulated/entrapped UV filters combined with cosmetic ingredient and photoprotective stick formulations; evaluation of the ocular irritation potential of photoprotective stick formulations by in vitro method HET-CAM - Hen's Egg Test - Chorioallantoic Membrane; evaluation the skin permeation/deposition and biodistribution profile of photoprotective stick formulations. The decrease in the surface area and in mesoporous volume (V) observed in the nitrogen adsorption desorption isotherms of encapsulated/entrapped samples indicated that UV filters were efficiently encapsulated/entrapped into SBA-15. Additionally, SAXS results showed that UV filters did not affected the hexagonal structure of the mesoporous material and that these compounds filled the SBA-15 pores. TG/DTG and elemental analysis were efficient tools to confirm the presence and the quantity of UV filters into SBA-15. DTA and DSC curves of encapsulated/entrapped materials showed that the thermal stability of AVO and BZF-3 were increased. On the other hand, DSC curves of encapsulated/entrapped materials demonstrated that thermal stability of OMC was not increase. The in vitro photoprotective efficacy results demonstrated that the combination of the three sunscreens encapsulated/entrapped into SBA-15 increased 52.0% the SPF values, while the stick formulation containing the UV filters encapsulated/entrapped, the increase was 94.0%. Delivery experiments using porcine skin demonstrated that the encapsulation/entrapping process of UV filters resulted the decreased of BZF-3 permeation and deposition in skin (6 and 12 hours). The cutaneous biodistribution profile of UV filters showed that the deposition of these compounds from encapsulated/entrapped stick formulation (F4) was significantly lower than that from UV filters stick formulations (F3) in the total slices of the skin and dermis. The comparative study between porcine skin and human skin demonstrated that the amounts of BZF-3 and AVO permeated and deposited in porcine skin were higher than in human skin for both formulations (F4 and FR – reference formulation). By the biodistribution technique it was possible to determine that the UV filters from the formulations F3 and FR presented higher retention of these compounds in the dermis than in other layers of the skin. On the other hand, it was observed that the encapsulated UV filters presented low retention rate into dermis.

Key-words: UV filters, photoprotection, SBA-15, stick formulations, in vitro SPF, biodistribution

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 2.1	Mecanismo de ação de filtros solares orgânicos.....	07
Figura 2.2	Estrutura química do benzofenona-3.....	09
Figura 2.3	Estrutura química da avobenzona.....	10
Figura 2.4	Espectro de absorção da avobenzona em vários tempos de irradiação sob atmosfera de oxigênio.....	13
Figura 2.5	Estrutura química do *p*-metoxicinamato de octila.....	14
Figura 2.6	Transformação fotoquímica da molécula do *p*-metoxicinamato de octila da forma *trans-cis*.....	14
Figura 2.7	Mecanismo de síntese da SBA-15.....	18
Figura 2.8	Ilustração do *design* ótico do espectrofotômetro de refletância difusa com esfera de integração.....	23
Figura 4.1	Fluxograma da síntese de sílica mesoporosa altamente ordenada do tipo SBA-15.....	30
Figura 4.2	Amostras da pele humana **(a)** e pele suína **(b)** montadas em células de difusão de Franz (Milian SA; Meyrin, Suíça) com uma área de difusão de 2,0 cm^2.....	52
Figura 4.3	Discos de pele de porco congelados em isopentano e montados em um criatomo (**a**) cortes da pele partindo da superfície da pele até uma profundidade de 800 µm (**b**).....	54
Figura 5.1	Imagens obtidas por MEV para sílica mesoporosa do tipo SBA-15 ampliadas 1000 (A), 2500 (B), 5000 (C) e 10 000 (D) vezes.....	57
Figura 5.2	Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) da amostra de SBA-15.....	57
Figura 5.3	Distribuição granulométrica das medidas da amostra de sílica do tipo SBA-15 obtido pelo método da dispersão líquida.....	58
Figura 5.4	Sobreposição das curvas TG/DTG obtidas a 10 $^oC\ min^{-1}$ e sob atmosfera dinâmica de ar das amostras de: SBA-15, BZF-3, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (1:2), SBA-15/BZF-3 (12,8%) e Mistura física (1:1).....	61
Figura 5.5	Sobreposição das curvas TG/DTG obtidas a 10 $^oC\ min^{-1}$ e sob atmosfera dinâmica de ar das amostras de: SBA-15, AVO, SBA-15/ AVO (1:1), SBA-15/ AVO (6%) e Mistura física.....	63

Figura 5.6 Sobreposição das curvas TG/DTG obtidas a 10 $^{o}C\ min^{-1}$ e sob atmosfera dinâmica de ar das amostras de: SBA-15, MCO, SBA-15/ MCO (1:1), SBA-15/ MCO (2:1) e Mistura física..... 65

Figura 5.7 Isoterma de adsorção/dessorção de N_2 para a amostra de SBA-15..... 69

Figura 5.8 Isoterma de adsorção/dessorção de N_2 e respectiva curva de distribuição do tamanho de poro das amostras de: SBA-15 (a), SBA-15/MCO-2:1 (b) e SBA-15/MCO-1:1 (c)..... 71

Figura 5.9 Isoterma de adsorção/dessorção de N_2 e curva de distribuição de tamanho de poro das amostras de: SBA-15 (a), SBA-15/AVO-6% (b), SBA-15/AVO- 1:1 (c)..... 71

Figura 5.10 Isoterma de adsorção/dessorção de N_2 e curva de distribuição de tamanho de poro para as amostras de: SBA-15 (a), SBA-15/BZF-3- 12,8% (b), SBA-15/BZF-3 -1:1 (c) e SBA-15/BZF-3 – 1:2 (d)..... 72

Figura 5.11 Difratograma de raios X obtido por SAXS para a amostra de SBA-15 pura..... 73

Figura 5.12 Representação dos poros de um material que apresenta ordenamento hexagonal..... 74

Figura 5.13 Difratogramas de raios X obtido por SAXS para as amostras: SBA-15 pura, mistura física filtros/SBA-15, filtros encapsuladas/incorporadas na SBA-15 e filtros isolados..... 76

Figura 5.14 Espectro FTIR das amostras SBA-15, BZF-3, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (128%), Mistura física 1:1 (SBA-15/BZF-3) e SBA-15/BZF-3 (1:2)..... 79

Figura 5.15 Espectro FTIR das amostras SBA-15, AVO, SBA-15/AVO (1:1), SBA-15/AVO (6%) e Mistura física 1:1 (AVO/SBA-15)... 81

Figura 5.16 Espectro FTIR das amostras SBA-15, MCO, SBA-15/MCO (2:1), SBA-15/MCO (1:1) e Mistura física 1:1 (MCO/SBA-15). 83

Figura 5.17 Sobreposição das curvas DSC obtidas a 10 $^{o}C\ min^{-1}$ e sob atmosfera dinâmica de N_2 das amostras de: SBA-15, BZF-3, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (1:2), SBA-15/BZF-3 (12,8%) e Mistura física (1:1)..... 86

Figura 5.18 Sobreposição das curvas DSC obtidas a 10 $^{o}C\ min^{-1}$ e sob atmosfera dinâmica de N_2 das amostras de: SBA-15, MCO, SBA-15/ MCO (1:1), SBA-15/ MCO (2:1) e Mistura física (1:1)..... 87

Figura 5.19 Sobreposição das curvas DTA obtidas a 10 ºC min^{-1} e sob atmosfera dinâmica de ar das amostras de: SBA-15, AVO, SBA-15/ AVO (1:1), SBA-15/ AVO (6%) e Mistura física..... 90

Figura 5.20 Difratogramas de raios X das amostras de SBA-15/AVO (6%), SBA-15/AVO (1:1), SBA-15 e AVO. Ampliação do difratograma de raio X da amostra SBA-15/AVO (1:1)..... 91

Figura 5.21 Difratogramas de raios X das amostras de mistura física de SBA-15 e AVO (1:1), para SBA-15 e para AVO. Ampliação do difratograma de raio X da amostra mistura física – SBA-15/AVO (1:1)..... 92

Figura 5.22 Difratogramas de raios X das amostras de SBA-15, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/AVO (12,8%), e BZF-3. 93

Figura 5.23 Difratogramas de raios X das amostras de SBA-15, SBA-15/BZF-3 (1:1), mistura física de SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (1:2), e BZF-3. Ampliação dos difratogramas de raio X da amostra SBA-15/BZF-3 (1:2) e mistura física de SBA-15/BZF-3 (1:1)..... 94

Figura 5.24 Curva analítica dos filtros solares padrões de referência primário. As concentrações das substâncias químicas de referência foram: BZF-3 (2,5; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75 e 100,0 µg mL-1), MCO (5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75 e 100,0 µg mL^{-1}) e AVO (10,0; 15,0; 20,0; 30,0 e 50,0 µg/mL^{-1}). Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20 °C)..... 98

Figura 5.25 Curva analítica dos filtros solares padrões de referência primário. As concentrações das substâncias químicas de referência foram: BZF-3, OMC e AVO (10,0; 15,0; 20,0; 40,0; 50,0; 60,0; 80,0 e 100,0 ng mL^{-1}. Condições cromatográficas: Coluna Waters XBridge® BEH C18 2,1 × 50 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática acetonitrila: água + 0,01% ácido fórmico (85:15), vazão: 0,3 mL min^{-1}; volume de injeção 5,0 µL; temperatura: 25 °C..... 99

Figura 5.26 Cromatograma referente à formulação moldada na forma de bastão com SBA-15 sem a presença dos filtros solares (**F2**). Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20 °C..... 102

Figura 5.27 Cromatograma referente à BZF-3, MCO e AVO, padrão de referência na concentração de 100 µg mL^{-1}. Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa

C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20 °C..... 102

Figura 5.28 Cromatograma referente à BZF-3, MCO e AVO, presentes na formulação moldada na forma de bastão (**F3**), nas concentrações de 59,6; 68,5 e 50,5 µg mL^{-1}, respectivamente. Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20 °C..... 103

Figura 5.29 Cromatograma referente à BZF-3, MCO e AVO, presentes na formulação moldada na forma de bastão (**F4**), nas concentrações de 47,3; 81,4 e 36,4 µg mL^{-1}, respectivamente. Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20 °C..... 103

Figura 5.30 Cromatogramas referente à solução em acetonitrila do homogeinizado de pele e solução padrão dos filtros solares em acetonitrila + pele..... 104

Figura 5.31 Cromatogramas referente à solução tampão (PBS+BRIJ® C20 – 0,5%) e solução padrão dos filtros solares em PBS+BRIJ® C20..... 104

Figura 5.32 Características organolépticas e físicas das formulações fotoprotetoras moldadas na forma de bastão.**F1**= formulação base (sem adição de ativos); **F2**= base associado a SBA-15; **F3** = base contendo os filtros solares (AVO, BZF-3 e MCO); **F4**= filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15; **F5**= combinação de filtros solares e SBA-15 (mistura física) na base..... 110

Figura 5.33 Curvas de absorbância das amostras de filtros solares encapsuladas na sílica SBA-15, filtro solares isolados e as suas respectivas misturas físicas (filtros solares/SBA-15), mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA); (n=3)..... 114

Figura 5.34 Curvas de absorbância das amostras de filtros solares encapsulados/incorporados na sílica SBA-15 e filtros solares isolados, mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA); (n=3)..... 115

Figura 5.35 Curvas de absorbância das amostras de filtros solares encapsulados/incorporados na sílica SBA-15, filtro solares isolados e as suas respectivas misturas físicas (filtros solares/SBA-15), mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA), antes e após a irradiação); (n=3)..... 118

Figura 5.36 Curvas de absorbância das amostras de filtros solares encapsulados/incorporados na sílica SBA-15 e filtro solares não encapsulados/incorporados na SBA-15, mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA), antes e após a irradiação; (n=3)..... 124

Figura 5.37 Curvas de absorbância das formulações fotoprotetoras na forma de bastão); (n=3)..... 126

Figura 5.38 Curvas de absorbância das formulações fotoprotetoras na forma de bastão mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA), antes e após a irradiação); (n=3)..... 126

Figura 5.39 Imagens obtidas em diferentes tempos do efeito do controle negativo (NaCl 0,9%) sobre a membrana corioalantoide..... 131

Figura 5.40 (A) Imagens obtidas em diferentes tempos do efeito da solução de NaOH (1,0% p/v); (B) efeito da dispersão de SDS (1,0% p/v) controles positivos sobre a membrana corioalantoide..... 132

Figura 5.41 Imagens obtidas em diferentes tempos do efeito da formulação bastão/SBA-15 sobre a membrana corioalantoide..... 132

Figura 5.42 Imagens obtidas em diferentes tempos do efeito da formulação bastão/filtros encapsulados/incorporados na SBA-5 sobre a membrana corioalantoide..... 132

Figura 5.43 Comparação das quantidades de OMC e AVO permeadas na pele de porco após aplicação das formulações fotoprotetoras nos tempos 6, 12 e 24 h. **F3**= formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/ incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 6). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05)..... 134

Figura 5.44 Comparação das quantidades de BZF-3 permeada na pele de porco após aplicação das formulações fotoprotetoras nos tempos 6, 12 e 24 h . **F3** = formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/ incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 6). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05)..... 135

Figura 5.45 Comparação das quantidades de BZF-3, AVO e MCO retida na pele de porco após aplicação das formulações fotoprotetoras nos tempos 6, 12 e 24 h. **F3** = formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/ incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 6). Os

resultados foram avaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05)..... 136

Figura 5.46 Perfil de biodistribuição cutânea da BZF-3 nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por 6 (A),12 (B) e 24 h (C). **F3** = formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/ incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05)..... 141

Figura 5.47 Quantidade da BZF-3 retida nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por 6 (**A**), 12 (**B**) e 24 h (**C**) . **F3** = formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foramavaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05)..... 142

Figura 5.48 Perfil de biodistribuição cutânea da AVO nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por 6 (A),12 (B) e 24 h (C). **F3** = formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/ incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05)..... 143

Figura 5.49 Quantidade da AVO retida nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por 6 (**A**), 12 (**B**) e 24 h (**C**) . **F3** = formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foramavaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05)..... 144

Figura 5.50 Perfil de biodistribuição cutânea da MCO nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por 6 (A),12 (B) e 24 h (C). **F3** = formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/ incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05)..... 146

Figura 5.51 Quantidade da MCO retida nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por 6 (**A**), 12 (**B**) e 24 h (**C**) . **F3** = formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foramavaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05)..... 147

Figura 5.52 Comparação das quantidades de BZF-3 permeada na pele suína e humana após aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h . **FR** = formulação referência; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 8). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05); *p = 0,00425 – comparação entre os dois modelos de pele da formulação **FR**; ** p = 0,3638 – comparação entre os dois modelos de pele da formulação **F4**..... 149

Figura 5.53 Quantidade de BZF-3 retida na pele de porco e humana após aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h. **FR** = formulação referência **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 8).Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 8). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05); * p = 0,00922 - comparação entre os dois modelos de pele da formulação **FR** ; ** p = 0,01204- comparação entre os dois modelos de pele da formulação **F4**..... 151

Figura 5.54 Quantidade de AVO retida na pele de porco e humana após aplicação das formulações **FR** e **F2** por 12 h . **FR** = formulação referência; **F4**= formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 6). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05); * *p* = 0,02711- comparação entre os dois modelos de pele da formulação **FR** ; ** *p* = 0,00025 - comparação entre os dois modelos de pele da formulação **F4**..... 152

Figura 5.55 Perfil de biodistribuição cutânea de BZF-3 nas camadas da pele suína (**A**) e humana (**B**) (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h. **FR** = formulação referência; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-

15. Quantidade de BZF-3 retida nas camadas da pele suína (**C**) e da pele humana (**D**) (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05)..... 154

Figura 5.56 Perfil de biodistribuição cutânea de AVO nas camadas da pele suína (**A**) e humana (**B**) (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h. **FR** = formulação referência; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Quantidade de AVO retida nas camadas da pele suína (**C**) e da pele humana (**D**) (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05)..... 155

Figura 5.57 Comparação das quantidades retidas de BZF-3 oriunda das formulações **FR** e **F4** nas peles suína e humana (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm); **FR** = formulação referência; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05)..... 156

Figura 5.58 Comparação das quantidades retidas de AVO oriunda das formulações **FR** e **F4** nas peles suína e humana (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm); **FR** = formulação referência; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05)..... 157

LISTA DE TABELAS

		Pág.
Tabela 2.1	Principais filtros solares utilizados em formulações fotoprotetoras, com seus espectros de ação.....	06
Tabela 4.1	Solventes e reagente utilizados.....	26
Tabela 4.2	Amostras de filtros solares de diferentes fornecedores.....	27
Tabela 4.3	Matérias-primas empregadas no preparo do bastão fotoprotetor.....	27
Tabela 4.4	Técnicas e equipamentos empregados.....	28
Tabela 4.5	Aparatos e dispositivos utilizados.....	29
Tabela 4.6	Associação de SBA-15 e filtros solares, suas respectivas razões mássicas e identificação das amostras.....	32
Tabela 4.7	Concentração dos filtros solares encapsulados e/ou incorporados na SBA-15, misturas físicas e filtros solares isolados adicionados no emoliente.....	37
Tabela 4.8	Composição qualitativa e quantitativa (%p/p) dos bastões fotoprotetoras.....	40
Tabela 4.9	Fase móvel empregada para o método CLAE.....	41
Tabela 4.10	Parâmetros utilizados para detecção dos filtros solares por MS/MS.....	42
Tabela 4.11	Classificação do potencial de irritação ocular.....	50
Tabela 4.12	Descrição da quantidade correspondente aplicada na pele de cada filtro solar e a concentração dos filtros UV nas formulações.....	52
Tabela 5.1	Dados sobre a medida do diâmetro a 10, 50, 90% e médio das partículas em µm da amostra de sílica do tipo SBA-15, taxa de obscuração e desvio padrão para cada medida.....	58
Tabela 5.2	Resultados de análise elementar e TG/DTG das amostras de SBA-15, filtros solares isolados, encapsulados/incorporados na SBA-15 e misturas físicas.....	67
Tabela 5.3	Parâmetros estruturais obtidos para sílica do tipo SBA-15 e para as amostras de filtros solares incorporados/ encapsulados no material mesoporoso.....	70
Tabela 5.4	Parâmetros obtidos por SAXS e espessura da parede de poros calculada para amostra de SBA-15 pura.....	74

Tabela 5.5 Parâmetros obtidos por SAXS e espessura da parede de poros calculada das amostras: SBA-15 pura, mistura física filtros/SBA-15 e filtros encapsuladas/incorporadas na SBA-15..... 77

Tabela 5.6 T_{pico} das curvas DSC das amostras de BZF-3, MCO, das amostras encapsuladas/incorporadas na SBA-15 e das respectivas misturas físicas..... 88

Tabela 5.7 Dados para a construção das curvas analíticas das diluições dos filtros solares padrões de referência primário para o método de CLAE..... 96

Tabela 5.8 Dados para a construção das curvas analíticas das diluições do filtros solares padrões de referência primário para método de UHPLC/MS/MS..... 97

Tabela 5.9 Resultados da análise da regressão linear e determinação quantititativa pelos métodos de CLAE e UHPLC/MS/MS para os filtros solares BZF-3, AVO e MCO..... 100

Tabela 5.10 Precisão e exatidão intra e interdia das soluções em metanol de BZF-3, AVO e MCO padrões de referência para a metodologia de CLAE/UV..... 106

Tabela 5.11 Precisão e exatidão intra e interdia das soluções em metanol de BZF-3, AVO e MCO padrões de referência para a metodologia de UHPLC/MS/MS..... 107

Tabela 5.12 Validação dos filtros solares a partir da extração total da pele de porco..... 108

Tabela 5.13 Dados da concentração teórica e recuperação dos filtros solares á partir das formulações fotoprotetoras..... 111

Tabela 5.14 Valores de FPS e comprimento de onda crítico in vitro das amostras de MCO encapsuladas/incorporados na sílica SBA-15, não encapsulada e a mistura física (MCO/SBA-15)..... 112

Tabela 5.15 Valores de FPS e comprimento de onda crítico in vitro das amostras de BZF-3 encapsuladas/incorporadas na sílica SBA-15, não encapsulada e a mistura física (BZF-3/SBA-15)..... 116

Tabela 5.16 Valores de FPS e comprimento de onda crítico in vitro das amostras de AVO encapsuladas/incorporadas na sílica SBA-15, não encapsulada e a mistura física (AVO/SBA-15) 113

Tabela 5.17 Valores de FPS e comprimento de onda crítico in vitro das amostras de filtros solares encapsuladas/incorporadas na sílica SBA-15 e filtros solares isolados..... 116

Tabela 5.18 Fotoestabilidade funcional das amostras de MCO, MCO encapsulados/incorporados na SBA-15 e as misturas físicas antes e após irradiação UV artificial..... 119

Tabela 5.19 Fotoestabilidade funcional das amostras de BZF-3, BZF-3 encapsulados/incorporados na SBA-15 e as misturas físicas antes e após irradiação UV artificial)..... 120

Tabela 5.20 Fotoestabilidade funcional das amostras de AVO, AVO encapsulados/incorporados na SBA-15 e as misturas físicas antes e após irradiação UV artificial..... 121

Tabela 5.21 Fotoestabilidade funcional das amostras de MCO/BZF-3, MCO/BZF-3/AVO, SBA-15/MCO (2:1) /BZF (1:2), SBA-15/MCO (1:1)/BZF (1:2) e SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1) antes e após irradiação UV artificial..... 122

Tabela 5.22 Valores de FPS e comprimento de onda crítico *in vitro* das formulações fotoprotetoras..... 125

Tabela 5.23 Caracterização funcional *in vitro* das formulações antes e após irradiação UV artificial..... 125

Tabela 5.24 Comparativo entre a formulação F5 e amostra SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1) em relação a valores de FPS e comprimento de onda crítico in vitro antes e após o processo de irradiação..... 130

Tabela 5.25 Classificação do potencial de irritação ocular – HET-CAM - das formulações contendo SBA-15 (**F2)** e filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 (**F5**)..... 131

Tabela 5.26 Cinética de permeação e retenção dos filtros solares..... 137

Tabela 5.27 Quantidades de filtros solares permeados e retidos na pele humana e de porco..... 150

LISTA DE EQUAÇÕES

		Pág.
Equação 4.1	Limite de detecção.....	44
Equação 4.2	Desvio padrão relativo (DPR, %).....	45
Equação 4.3	Exatidão (%).....	46
Equação 4.4	Cálculo do FPS estimado *in vitro*.....	48
Equação 4.5	Cálculo do comprimento de onda crítico estimado.....	48
Equação 4.6	Índice de irritação ocular (IS), onde: H = tempo (s) para iniciar um evento hemorrágico; L = tempo (s) para iniciar uma lise vascular; C = tempo (s) para iniciar uma coagulação.....	49
Equação 5.1	Cálculo da distância interplanar em nanômetros (d/nm).....	75
Equação 5.2	Cálculo do parâmetro de rede em nanômetros do pico indexado 100 (a_{100}/nm).....	75
Equação 5.3	Cálculo do parâmetro de rede em nanômetros do pico indexado 110 (a_{110}/nm).....	75
Equação 5.4	Cálculo do parâmetro de rede em nanômetros do pico indexado 200 (a_{200}/nm).....	75
Equação 5.5	Cálculo do parâmetro de rede em nanômetros do pico indexado 210 (a_{210}/nm).....	75
Equação 5.6	Cálculo do parâmetro de rede em nanômetros do pico indexado 300 (a_{300}/nm).....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

λ crit	Comprimento de onda crítico
Abs	Absorbância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
A/O	Água em óleo
AVO	Avobenzona
BZF-3	Benzofenona-3
BET	Brunauer-Emmett-Teller
BRIJ® C20	Ceteth-20 (Tensoativo não-iônico)
BJH	Barrett-Joyner-Halenda
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COLIPA	Cosmetics Europe personal care association
DEM	Dose Eritematógena Mínima
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPR	Desvio padrão relativo
DRX	Difratometria de raios X
DTA	*Análise térmica diferencial*
DSC	*Calorimetria Exploratória Diferencial*
DTG	Derivada primeira da curva termogravimétrica
E	Exatidão
F1	Formulação moldada na forma de bastão
F2	Formulação moldada na forma de bastão contendo SBA-15
F3	Formulação moldada na forma de bastão contendo os filtros solares não encapsulados na SBA-15
F4	Formulação moldada na forma de bastão contendo os filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15
F5	Formulação moldada na forma de bastão contendo os filtros solares e SBA-15
FDA	*Food and Drug Administration*
FPS	Fator de Proteção Solar
FR	Formulação bastão referência
FTIR	*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*
HET-CAM	*Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane*
HPCD	Hidroxipropil-β-ciclodextrina
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia
INCI	*International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*
LD	Limite de detetecção
LQ	Limite de quantificação
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energia
MCM	Mobil Composition of Mater, instituição onde foram descobertas as sílicas mesoporosas ordenadas

MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
COM	p-metoxicinamato de octila
O/A	Óleo em água
P123	P123 Pluronic® 123, co-polímero tribloco utilizado na síntese da SBA-15
PBS	Solução tampão fosfato salina
PABA	Ácido *p*-amino benzoico
PAS	Espectroscopia fotoacústica
PMMA	Polimetilmetacrilato
PPD	*Persistent Pigment Darkening*
R^2	*Coeficiente de correlação*
SAX	*Small Angle X-ray Scattering*
SBA	Santa Barbara, denotanto o lugar onde as sílicas tipo SBA (baseadas na família Pluronic®) foram desenvolvidas
SBET	Área superficial BET
SMAO	Sílicas mesoporosas altamente ordenadas
T	Tempo
TG	Termogravimetria
TEOS	Tetra-Etil Orto-Silicato, fonte de sílica utilizada na síntese da SBA-15
UHPLC/MS/MS	Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry
UV	Ultravioleta
UVA-PF	Fator de Proteção UVA
V	Volume de poro

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO…….	vi
ABSTRACT…….	vii
LISTA DE FIGURAS……..……..	viii
LISTA DE TABELAS……	xvi
LISTA DE EQUAÇÕES…….	xix
LISTA DE ABREVIATURAS…….……..	xx
1. INTRODUÇÃO……..	01
2. REVISÃO DA LITERATURA……..	03
2.1 Radiações ultravioletas e seus efeitos deletérios.....	03
2.2 Fotoprotetores……..	04
2.2.1 Filtros solares inorgânicos……..	05
2.2.2 Filtros solares orgânicos…….	06
2.3 Materiais mesoporosos……..	15
2.4 Encapsulação de filstros solares em materiais nanoestruturados.....	19
2.5 Avaliação da eficácia fotoprotetora……..	22
3. OBJETIVOS……...	25
3.1 Objetivo geral……	25
3.2 Objetivos específicos……..	25
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 Materiais……	26
4.2 Métodos…….	29
4.2.1 Síntese da SBA-15……..	29
4.2.2 Processos de encapsulação/incorporação dos filtros solares com a sílica mesoporosa do tipo SBA-15.....	31
4.3 Técnicas de caracterização……	32
4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)…….	32
4.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)…….	32
4.3.3 Análise do tamanho de partícula.....	33
4.3.4 Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG) e Análise Térmica Diferencial (DTA).....	33
4.3.5 Análise elementar.....	34
4.3.6 Isoterma de adsorção/dessorção de nitrogênio.....…….	34

4.3.7 Espalhamento de raios X e a baixo ângulo (SAXRD) ……..... 35

4.3.8 Espectroscopia Molecular na região do infravermelho (FTIR)..... 35

4.3.10 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)..... 36

4.3.11 Difratometria de raios X..... 36

4.4 Adição das amostras encapsuladas/incorporadas na SBA-15 em ingrediente cosmético..... 36

4.5 Preparo das formulações fotoprotetoras moldadas na forma de bastão..... 38

4.6 Métodos analíticos…….. 41

4.6.1 Quantificação dos filtros solares por CLAE e UHPLC/MS/MS..... 41

4.6.2 Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de filtros solares por CALE/UV e UHPLC/MS/MS..... 43

4.6.2.1 Linearidade…….. 43

4.6.2.2 Limites de detecção e quantificação..... 43

4.6.2.3 Especificidade e pesquisa de interferentes..... 44

4.6.2.4 Precisão e exatidão..... 45

4.7 Recuperação dos filtros solares a partir da pele pelo método de UHPLC/MS/MS..... 46

4.8 Quantificação dos filtros solares nas formulações moldadas na forma de bastão fotoprotetor por CLAE..... 47

4.9 Eficácia fotoprotetora estima *in vitro*..... 47

4.10 Ensaio de fotoestabilidade..... 48

4.11 Avaliação do potencial de irritação ocular por método *in vitro* HET-CAM - *Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane*..... 49

4.12 Avaliação da permeação e retenção cutânea *in vitro* dos filtros solares..... 50

4.12.1 Avaliação do tempo de aplicação das formulações nos tempos 6, 12 e 24 horas..... 53

4.12.2 Estudo comparativo entre a pele humana e de porco..... 53

4.13 Perfil de biodistribuição cutânea dos filtros solares na pele humana e de porco..... 54

4.14 Análise estatística dos resultados..... 55

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO…… 56

5.1 Caracterização da SBA-15 por Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Microscopia eletrônica de transmissão (MET)..... 56

5.2 Avaliação do tamanho de partícula por difração a laser..... 58

5.3 Termogravimetria e Termogravometria Derivada (TG/DTG)..... 59

5.4 Análise elementar..... 66

5.5 Medidas de adsorção/adssorção de N_2..... 69

5.6 Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAX)..... 73

5.7 Espectroscopia Molecular na região do infravermelho (FTIR)..... 78

5.8 Difratometria de raio X (DRX), DSC e DTA..... 84

5.9 Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de filtros solares por CLAE/UV e UHPLC/MS/MS..... 95

5.9.1 Linearidade..... 95

5.9.2 Limites de detecção e quantificação..... 100

5.9.3 Especificidade e pesquisa de interferentes método..... 101

5.9.4 Precisão e exatidão..... 105

5.10 Recuperação dos filtros solares a partir da pele pelo método UHPLC/MS/MS..... 108

5.11 Adição das amostras encapsuladas/incorporadas na SBA-15 em solvente cosmético (C_{12}-C_{15} benzoato de alquila)..... 109

5.12 Preparo das formulações fotoprotetoras na forma de bastão..... 109

5.13 Quantificação dos filtros solares nas formulações moldadas na forma de bastão fotoprotetor por CLAE/UV..... 110

5.14 Eficácia fotoprotetora *in vitro* dos filtros solares combinados em solvente cosmético..... 111

5.15 Fotoestabilidade dos filtros combinados em solvente cosmético..... 118

5.16 Avaliação *in vitro* da eficácia fotoprotetora e fotoestabilidade das formulações fotoproteras na forma de bastão..... 124

5.17 Avaliação do potencial de irritação ocular por método *in vitro* HET-CAM - Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane..... 130

5.18 Avaliação da permeação, retenção cutânea *in vitro* dos filtros solares: Avaliação do tempo de aplicação das formulações..... 133

5.18.1 Investigação do perfil de biodistribuição cutânea dos filtros solares nos tempos 6, 12 e 24 horas..... 139

5.19 Avaliação da permeação e retenção cutânea *in vitro* na pele suína e pele humana 148

5.19.1 Investigação do perfil de biodistribuição dos filtros solares em pele suína e pele humana..... 152

6. CONCLUSÕES……..…… 160

7. REFERÊNCIAS…….…….. 162

8. APÊNDICES……...…… 180

9. ANEXOS…….. 200

1. INTRODUÇÃO

Os fotoprotetores apresentam como finalidade básica prevenir o tecido cutâneo dos danos causados pela radiação ultravioleta (UV), protegendo a pele dos eventos adversos como: danos ao DNA, carcinomas cutâneos, fotoenvelhecimento, queimaduras entre outros. As formulações fotoprotetoras podem ser compostas de filtros orgânicos e filtros inorgânicos ou a combinação de ambos (ABID *et al.*, 2017; KOCKLER *et al.*, 2012). Os filtros solares orgânicos são compostos aromáticos conjugados com grupos carboxílicos, capazes de absorver radiação UVA e UVB (BABY *et al.*, 2008; SHAATH, 2010; VELASCO *et al.*, 2008a).

Estes compostos devem permanecer na superfície da pele e penetrar o mínimo possível nas camadas superfíciais do tecido cutâneo (estrato córneo), de modo a assegurar suas propriedades fotoprotetoras e assim como evitar a toxicidade sistêmica (BENECH-KIEFFER et al., 2000; POTARD et al., 2000). Contudo, muitos filtros orgânicos podem permear através das camadas mais profundas da pele, atingindo a circulação sanguínea e consequentemente acarretando efeitos sistêmicos no sistema endócrino. Além disso, muitos destes compostos são fotoinstáveis o que pode prejudicar a sua eficácia fotoprotetora e, bem como, podem causar fotosensibilização e fototoxicidade cutânea ao usuário destes compostos (KLIMOVÁ; HOJEROVÁ; BERÁNKOVÁ, 2015; KLIMOVÁ; HOJEROVÁ; PAŽOUREKOVÁ, 2013; KRAUSE *et al.*, 2012).

Desta forma, considerando todos esses problemas ligados ao uso de protetores solares, mas também a necessidade de fotoproteção contra os raios UV, a investigação científica nesta área, tem se dedicado no desenvolvimento de novas tecnologias com o intuito de aumentar a segurança e eficácia destes compostos. Sendo assim, novas nanopartículas ou materias nanoestruturados carreadoras como ciclodextrinas, polímeros, micropartículas lipídicas e materiais mesoporosos estão sendo estudados com o objetivo de evitar a permeação cutânea e aumentar a fotoestabilidade dos filtros solares (AMBROGI *et al.*, 2013a, 2013b; BLASI *et al.*, 2011).

As sílicas mesoporosas amorfas (MCM-41, MCM-48, SBA-15, FDU-1, etc) têm sido estudadas como carreadoras de fármacos devido a sua natureza atóxica, estrutura mesoporosa ordenada, diâmetros e volume de poros ajustáveis e grandes áreas superficiais com a presença de grupos silanóis na superfície dos poros. Adicionalmente, estes materiais mesoporosos apresentam elevada estabilidade térmica, hidrotérmica, química e mecânica, dependendo da espessura da parede do poro (DA SILVA *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015).

O presente trabalho envolveu a síntese e caracterização de material mesoporoso ordenado do tipo SBA-15, bem como, a encapsulação/ incorporação de filtros solares orgânicos na SBA-15. Ademais, os materiais encapsulados/incorporados na SBA-15 foram submetidos a testes de eficácia e segurança, além do desenvolvimento de formulações na forma de bastão fotoprotetor contendo estes materiais. As técnicas utilizadas para verificar estes parâmetros foram: ensaios de permebilidade/retenção cutânea *in vitro* em células de difusão vertical com biomembrana humana e suína, investigação do perfil de biodistribuição dos filtros com biomembrana humana e suína, avaliação do potencial de irritação ocular por método *in vitro* HET-CAM e eficácia *in vitro* frente à proteção UVA e UVB.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Radiações ultravioletas e seus efeitos deletérios

A distribuição espectral da radiação ultravioleta (UV) na superfície da Terra inclui o ultravioleta C ou UVC (100-280 nm), ultravioleta B ou UVB (290-320 nm), e o ultravioleta A ou UVA. O UVA pode ser dividido em UVA II (320 a 340 nm) e UVA I (340 a 400 nm) (DIFFEY, 2015; DIFFEY *et al.*, 2000). Tanto a radiação UVA como UVB estão envolvidas nos processos degenerativos da pele, como envelhecimento e câncer (LEVI, 2013; WANG; BALAGULA; OSTERWALDER, 2010). A radiação UVB normalmente induz o eritema e danos de forma direta no DNA devido a formação de dímeros de piridina, enquanto que a radiação UVA induz a pigmentação e fotoenvelhecimento cutâneo. Entretanto, a radiação UVA também pode danificar o DNA de forma indireta, por meio da formação de espécies reativas de oxigênio (EROS) (SAMBANDAN; RATNER, 2011).

Clinicamente, os raios UV podem causar alterações na pele como rugas, ressecamento, telangiectasia, envelhecimento e pigmentação. Histologicamente, o envelhecimento da pele é refletido na desorganização das fibras de colágeno, perda de fibras de elastina, achatamento da junção dermoepidermal e dilatação dos vasos sanguíneos. Ademais, ocorrem alterações morfológicas e quantitativas nos queratinócitos, melanócitos, fibroblastos e células de Langerhans. A exposição crônica aos raios UV tem sido associada ao desenvolvimento de ceratose actínica, carcinoma espinocelular e câncer basocelular, enquanto que a exposição intermitente está associada ao desenvolvimento de melanona, o tipo mais perigoso de câncer de pele (ABID *et al.*, 2017; DJAVAHERI-MERGNY *et al.*, 1996; GILBERT *et al.*, 2016; HANSON *et al.*, 2015).

Para reduzir os potenciais danos causados pela exposição à radiação UV, a comunidade médica, indústrias cosméticas e meios de comunicação têm trabalhado nas últimas décadas para educar o público sobre a importância da

fotoproteção (WANG; BALAGULA; OSTERWALDER, 2010). Atualmente, a utilização de protetores solares tornou-se um modo quase que exclusivo de proteção utilizada pelo público em atividades ao ar livre (BALK; FISHER; GELLER, 2013; DRAELOS, 2008; HALL *et al.*, 1997).

2.2 Fotoprotetores

Os fotoprotetores são preparações que apresentam filtros solares em sua composição e atuam de modo a proteger a pele contra os efeitos deletérios dos raios UV. Podem ser classificados em diferentes grupos de formulações, tais como, emulsões (creme e loção), óleos, soluções alcoólicas, aerossóis, formas moldadas (bastões e protetores labiais) e pós. Nestas preparações são incorporados os filtros solares, que são moléculas ou complexos moleculares que podem absorver, refletir ou dispersar a radiação UV (BALOGH; PEDRIALI; KANEKO, 2011; MIKSA *et al.*, 2016; WU *et al.*, 2014).

Em geral filtros solares devem possuir vários atributos, devendo ser fotoestáveis e dissipar a energia absorvida de forma eficaz por meio das vias fotofísicas e fotoquímicas evitando a formação de oxigênio *singlet*, espécies reativas de oxigênio e outros intermediários que podem ser prejudiciais. Além disso, não devem penetrar na pele, podendo acarretar efeitos deletérios ao DNA (CESTARI; OLIVEIRA; BOZA, 2012; SERPONE; DONDI; ALBINI, 2007).

No entanto, muitos filtros solares orgânicos têm sido utilizados há muito tempo, porém os perfis de segurança, toxicidade e eficácia não estão muito bem estabelecidos. Especialmente há uma preocupação crescente sobre eventuais consequências prejudiciais da exposição a benzofenona-3 e ao *p*-metoxicinamato de octila. Estudos apontam que estes compostos apresentam permeação cutânea podendo causar efeitos sistêmicos no sistema endócrino. Além disso, muitos destes compostos são fotoinstáveis o que pode prejudicar a sua eficácia fotoprotetrora e causar foto sensibilização cutânea ao usuário

(AMBROGI *et al.*, 2013a; KLIMOVÁ; HOJEROVÁ; BERÁNKOVÁ, 2015; KRAUSE *et al.*, 2012).

Há duas classes de filtros solares: orgânicos e inorgânicos, classificados respectivamente como filtros de efeito químico e filtros de efeito físico. Tal classificação apresenta apenas um caráter comercial e necessita ser reavaliada (CESTARI; OLIVEIRA; BOZA, 2012; SERPONE; DONDI; ALBINI, 2007). Na atualidade, formulações fotoprotetoras apresentam a combinação de tipos de filtros UV orgânicos e inorgânicos, com a finalidade de proporcionar amplo espectro de proteção (GILBERT *et al.*, 2013; MAIER *et al.*, 2005; MIKSA *et al.*, 2016).

2.2.1 Filtros solares inorgânicos

Os filtros inorgânicos são óxidos metálicos que agem por reflexão ou espalhamento da radiação UV, sendo representados por dois tipos: ZnO (óxido de zinco) e TiO_2 (dióxido de titânio). Ressalta-se que os fenômenos de reflexão e espalhamento dependem do tamanho de partículas destes compostos químicos, dentre outros fatores (DIFFEY; GRICE, 1997; LEONG *et al.*, 2016).

Estes representam a forma mais segura e eficaz para proteger a pele, pois apresentam baixo potencial de irritação, sendo, inclusive, os filtros solares recomendados no preparo de fotoprotetores para uso infantil e indivíduos com pele sensível (MORLANDO *et al.*, 2016; WANG; BALAGULA; OSTERWALDER, 2010).

Em geral, podem ser encontrados dispersos nas formulações e são os principais responsáveis pela opacidade e coloração branca dos fotoprotetores. Ainda que os filtros inorgânicos sejam eficazes e seguros, com raros casos de fotossensibilização ou fotoalergias, a sua aceitabilidade cosmética se torna um impeditivo para sua ampla utilização, devido ao efeito esbranquiçado que pode deixar na pele do usuário durante aplicação destes compostos (SAMBANDAN; RATNER, 2011). Em contraste, alguns ativos orgânicos, tais como a avobenzona

são fotolábeis e podem perder 50% da propriedade fotoprotetora após 1 hora de exposição à radiação UV (PINNELL *et al.*, 2000).

2.2.2 Filtros solares orgânicos

Os filtros orgânicos são compostos aromáticos conjugados, contendo grupamentos aceptores e doadores de elétrons. Por meio de um mecanismo de ressonância, os filtros orgânicos são capazes de absorver a radiação UV e reduzir sua energia, dissipando-a na forma de calor, menos agressivo ao organismo. Estas moléculas são, essencialmente, componentes 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. Quanto à solubilidade, podem ser hidro ou lipossolúveis. Os principais filtros solares aprovados mundialmente, bem como seus respectivos espectros de absorção, estão listados na **Tabela 2.1**.

Tabela 2.1 Principais filtros solares utilizados em formulações fotoprotetoras, com seus espectros de ação (PALM; O'DONOGHUE, 2007).

Filtro Solar	Nomenclatura INCI	Espectro de Ação
Octil dimetil PABA	*Ethyl hexyl dimethyl PABA*	UVB
Metoxicinamato de octila	*Ethyl hexyl methoxycinnamate*	UVB
Salicilato de octila	*Ethyl hexyl salicylate*	UVB
Octocrileno	*Octocrylene*	UVB
Benzofenona-3	*Benzophenone-3*	UVA II / UVB
Avobenzona	*Butyl methoxy dibenzoylmethane*	UVA I
Dióxido de titânio	*Titanium dioxide*	UVA / UVB
Óxido de zinco	*Zinc oxide*	UVA / UVB

Legenda: Nomenclatura conforme *International Nomenclature of Cosmetic Ingredients* - INCI.

O mecanismo de ação destes compostos envolve a absorção da radiação UV e, em seguida, os elétrons situados no orbital π HOMO (orbital molecular preenchido de mais alta energia) são excitados para orbital π* LUMO (orbital

molecular não ocupado de mais baixa energia) e, ao retornarem para o estado inicial, o excesso de energia é liberado em forma de calor (**Figura 2.1**). As transições eletrônicas que estão envolvidas durante a absorção da luz UV ocorrem entre a diferença de energia HOMO – LUMO (JANSEN *et al.*, 2013).

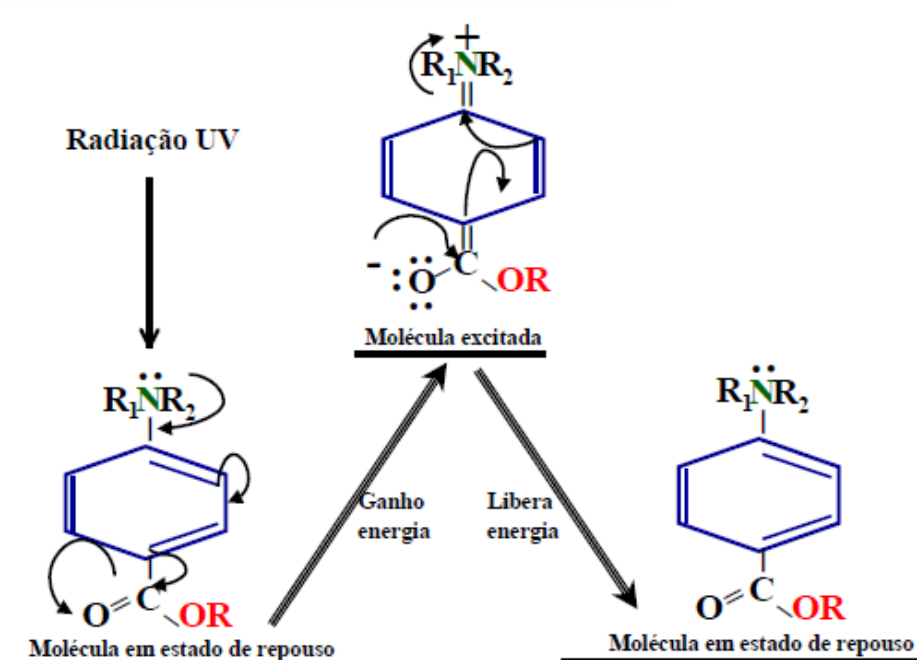


Figura 2.1 Mecanismo de ação de filtros solares orgânicos. (**Fonte:** autoria própria).

Como estes compostos absorvem apenas parte da região do UV (UVA ou UVB), para se obter proteção completa é necessária uma combinação entre estes filtros. Por outro lado, a combinação de diferentes tipos de filtros pode causar grau de irritabilidade quando aplicada à pele (GILBERT *et al.*, 2013).

Ademais, para que os protetores solares apresentem eficácia, é necessário que os mesmos permaneçam estáveis durante todo o período de exposição. No entanto, durante as reações de dissipação de energia, pode ocorrer degradação parcial dos filtros, com consequente diminuição da sua eficácia e formação de produtos de fotodegração, que induzem reações fototóxicas, fotoalérgicas e irritação cutânea (NIKOLIĆ *et al.*, 2011; ROSCHER *et al.*, 1994; SHAATH, 2010). Além disso, os filtros solares podem permear

através do tecido cutâneo, atingindo a circulação sistêmica e serem excretados na urina (GILBERT *et al.*, 2013, 2016; LIAO; KANNAN, 2014). Janjua e colaboradores (2008) avaliaram a permeação cutânea *in vivo*, dos filtros orgânicos: 3-(4-metilbenzilideno), benzofenona-3 e *p*-metoxicinamato de octila. Nesse trabalho, concluiu-se que há uma penetração substancial destes filtros. Após aplicação destes no tecido cutâneo, foi possível detectar a presença destes compostos tanto na urina quanto no sangue dos voluntários. Porém, nenhuma alteração nos níveis do hormônio sexual feminino foi observada dentro do tempo fixado para o controle. Este fenômeno pode ser justificado pelo carácter lipofílico e baixo peso molecular destes compostos químicos (JANJUA *et al.*, 2008).

Em outro trabalho, Krause e colaboradores (2012) apontaram diversos estudos realizados com filtros solares como benzofenona-3 e *p*-metoxicinamato de octila, a respeito dos seus potenciais efeitos adversos relacionados ao sistema endócrino. Foi observado que boa parte destes filtros foram encontrados na circulação sanguínea e, consequentemente, na urina e no leite materno (KRAUSE *et al.*, 2012).

As moléculas químicas orgânicas absorvedoras de radiação UV são divididas em filtros UVA, que exercem proteção frente à radiação UVA, filtros UVB, que exercem proteção frente à radiação UVB, e filtros de amplo espectro, que promovem proteção contra radiação UVA e UVB (LEONG *et al.*, 2016)

Os principais filtros orgânicos UVA presentes nos fotoprotetores incluem as benzofenonas (principalmente oxibenzona), avobenzona, ácido tereftalidenodicânfora sulfônico, drometrizoltrisiloxano, metileno-bis-benzotriazoliltetrametilbutilfenol e bis-etilexiloxifenol metoxi feniltriazina. Classifica-se o antranilato de mentila como filtro UVA, mas o mesmo é raramente utilizado (GONZÁLEZ; FERNÁNDEZ-LORENTE; GILABERTE-CALZADA, 2008).

A benzofenona-3 ou oxibenzona é um filtro orgânico pertencente à classe das cetonas aromáticas (**Figura 2.2**). Este composto absorve nas regiões UVAII/UVB, com picos de absorção entre 290 e 360 nm. O FDA aprovou o seu uso no início da década de 80 para o uso em formulações fotoprotetoras. Estudos revelam

que a benzofenona-3 apresenta alta fotoestabilidade, mesmo após ser irradiada por período prolongado. (GONZÁLEZ; FERNÁNDEZ-LORENTE; GILABERTE-CALZADA, 2008; PALM; O'DONOGHUE, 2007). ABID, 2017).

Contudo, as benzofenonas são consideradas pelo FDA um dos agentes antissolares mais alergênicos, sendo que a benzofenona-3 apresenta maior incidência de fotoalerginicidade e fotocontato, quando comparado a outros compostos (PALM; O'DONOGHUE, 2007; AMBROGI, 2013). Ademais, outro problema importante do uso deste composto é a sua capacidade de permeação pelo tecido cutâneo e consequentemente absorção sistêmica, acarretando problemas endócrinos, especialmente efeitos estrogênicos (KLIMOVÁ, 2015; AMBROGI, 2013; KIM, 2014).

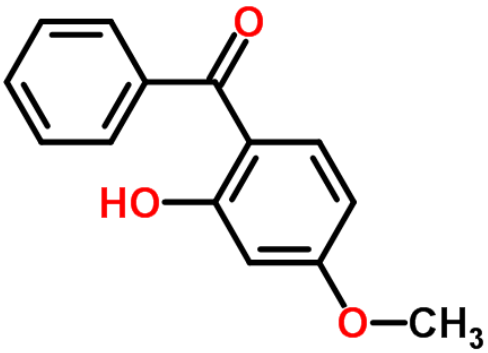


Figura 2.2 Estrutura química da benzofenona-3.

No final da década de 80 e início da década de 90, introduziu-se a avobenzona (*butyl methoxydibenzoylmethane*) (**Figura 2.3**). Este filtro UVA revolucionou a proteção contra a radiação UVA. Foi o primeiro a apresentar proteção UVA-I, abrangendo o intervalo de comprimento de onda de 310 a 400 nm. Este sofre significante degradação perante exposição à luz. Apenas 60 minutos de exposição à radiação UV são suficientes para reduzir a efetividade do produto de 50% a 90%, assim torna-se necessária a fotoestabilização das formulações (AFONSO *et al.*, 2014).

Geralmente, adiciona-se um filtro solar com boa proteção UVB, como o salicilato de homomentila. Pesquisas recentes visam ao desenvolvimento de

novos veículos para a avobenzona, contendo estabilizantes mais efetivos. Indústrias investem no desenvolvimento de formulações finais, envolvendo, por exemplo, combinações da avobenzona com octocrileno (2-ciano-3,3-difenilacrilato de 2-etilexila). A adição deste composto fotoestabiliza a avobenzona (DEFLANDRE; LANG, 1988; MORABITO *et al.*, 2011; PALM; O'DONOGHUE, 2007).

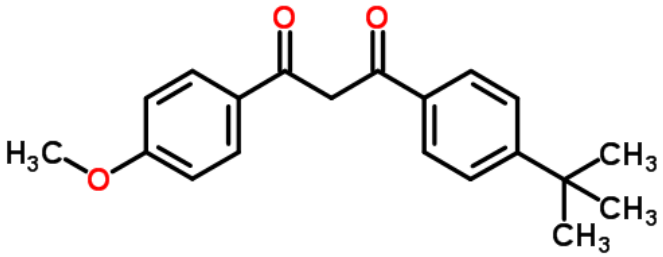


Figura 2.3 Estrutura química da avobenzona.

Atualmente, existe uma grande preocupação em torno da segurança dos filtros solares disponíveis no mercado, seu uso deve ser mantido pelos consumidores. A possibilidade de rejeição ao uso do produto apresenta riscos maiores à saúde dos usuários, do que a utilização diária de fotoprotetores (AFONSO *et al.*, 2014; GILBERT *et al.*, 2013; MORABITO *et al.*, 2011).

Dentre as estratégias para o desenvolvimento de protetores solares seguros, está a redução da concentração de filtros químicos. Tal estratégia é utilizada devido as possíveis reações alérgicas ou irritativas e pela permeação cutânea destes compostos químicos. A investigação científica na área de fotoproteção tem se dedicado ao desenvolvimento de novas tecnologias ou novos carreadores com o intuito de aumentar a segurança no uso destes compostos. Sendo assim, novas partículas carreadoras como ciclodextrinas, polímeros, micropartículas lipídicas e materiais mesoporosos estão sendo estudados com o objetivo de evitar a permeação cutânea e aumentar a sua fotoestabilidade (BLASI *et al.*, 2011; WU *et al.*, 2014)

A temática mais abordada na área da fotoproteção é a fotoestabilidade, pois uma vez que um filtro solar UVA ou UVB é irradiado, deve manter-se inalterado. Contudo, a maior parte dos compostos químicos sofre

fotodegradação. Este tipo de perfil não só compromete a eficácia fotoprotetora, mas também pode desencadear processos de sensibilização cutânea (KOCKLER *et al.*, 2012; LHIAUBET-VALLET *et al.*, 2010).

Conforme mencionado anteriormente, a avobenzona é o filtro solar UVA mais comumente utilizado em formulações fotoprotetoras de amplo espectro, e muito conhecida pela sua fotoinstabilidade (AFONSO *et al.*, 2014; KOCKLER *et al.*, 2012; LHIAUBET-VALLET *et al.*, 2010).

Sabe-se que este composto é uma cetona aromática e mantem-se em equilíbrio químico entre as formas ceto-enol, sendo esse equilíbrio afetado pela radiação ultravioleta, temperatura, solvente e concentração (KOCKLER *et al.*, 2012).

Esta molécula apresenta espectro de absorção de radiação compatível com a faixa do UVA (320-400 nm), são observados dois picos principais de absorção, por volta de 350 nm (mais intenso) e atribuído a forma enol da avobenzona, enquanto que por volta de 270 nm (menos intenso) atribuído a forma cetônica deste composto. Contudo, após a irradiação, ocorre predominância da forma cetônica, que possui espectro de absorção da radiação compatível com o UVC. De acordo com a **Figura 2.4** pode-se constatar que o aumento do tempo de irradiação resultou em um aumento da forma cetônica e diminuição da forma enólica (ABID *et al.*, 2017; AFONSO *et al.*, 2014; KOCKLER *et al.*, 2012).

A fotoisomerização da avobenzona é discutida por diversos estudos como um fenômeno dependente de oxigênio, que ocorre por meio da excitação ao estado tripleto de energia. No momento que a radiação incide sobre a molécula de um filtro orgânico, ela é promovida ao estado excitado singleto, em que o spin do elétron no orbital excitado mantém sua orientação original. A partir desse ponto, a molécula pode retornar ao estado fundamental, por meio da emissão de um fóton ou atingir um estado menos excitado de energia, denominado tripleto, em que a orientação do elétron que foi promovido ao estado excitado é invertida e o retorno ao estado fundamental ocorre em menor velocidade (ABID *et al.*, 2017). O ciclo encerra-se com o retorno ao estado fundamental, contudo, o mecanismo de dissipação de energia nem sempre é completado. Por conseguinte, a ineficiência do processo pode gerar modificações moleculares e inviabilizar a absorção de

energia pelo composto orgânico. A cadeia de eventos acima descreve o processo de fotodegradação da avobenzona. A formação de radicais livres provenientes da clivagem de sua estrutura influencia, não só sua capacidade de proteção UVA como também, afeta o perfil UVB de demais filtros presentes em protetores solares de amplo espectro, tal como *p*-metoxicinamato de octila (KOCKLER *et al.*, 2012; LHIAUBET-VALLET *et al.*, 2010) .O *p*-metoxicinamato de octila é uma molécula orgânica amplamente utilizada em formulações fotoprotetores nos Estados Unidos e no mundo. Este composto é o mais potente filtro UVB utilizado, sendo capaz de absorver radiação de λ entre 280 e 320 nm. Ademais, este filtro solar apresenta propriedades físicas desejáveis as formulações fotoprotetoras, conferindo resistência á agua as preparações. A **Figura 2.5** ilustra a estrutura química do *p*-metoxicinamato de octila (HANSON *et al.*, 2015; PALM; O'DONOGHUE, 2007).

A fotoisomerização da avobenzona é discutida em diversos estudos como um fenômeno dependente de oxigênio, que ocorre por meio da excitação ao estado tripleto de energia. No momento que a radiação incide sobre a molécula de um filtro orgânico, ela é promovida ao estado excitado singleto, em que o spin do elétron no orbital excitado mantém sua orientação original. A partir desse ponto, a molécula pode retornar ao estado fundamental, por meio da emissão de um fóton ou atingir um estado menos excitado de energia, denominado tripleto, em que a orientação do elétron que foi promovido ao estado excitado é invertida e o retorno ao estado fundamental ocorre em menor velocidade (ABID *et al.*, 2017). O ciclo encerra-se com o retorno ao estado fundamental, contudo, o mecanismo de dissipação de energia nem sempre é completado. Por conseguinte, a ineficiência do processo pode gerar modificações moleculares e inviabilizar a absorção de energia pelo composto orgânico. A cadeia de eventos acima descreve o processo de fotodegradação da avobenzona. A formação de radicais livres provenientes da clivagem de sua estrutura influencia, não só sua capacidade de proteção UVA como também, afeta o perfil UVB de demais filtros presentes em protetores solares de amplo espectro, tal como *p*-metoxicinamato de octila (KOCKLER *et al.*, 2012; LHIAUBET-VALLET *et al.*, 2010) .O *p*-metoxicinamato de octila é uma molécula orgânica amplamente utilizada em formulações fotoprotetores nos Estados Unidos e no mundo. Este composto é o mais potente filtro UVB utilizado,

sendo capaz de absorver radiação de λ entre 280 e 320 nm. Ademais, este filtro solar apresenta propriedades físicas desejáveis as formulações fotoprotetoras, conferindo resistência á agua as preparações. A **Figura 2.5** ilustra a estrutura química do *p*-metoxicinamato de octila (HANSON *et al.*, 2015; PALM; O'DONOGHUE, 2007).

No entanto, a estrutura molecular deste composto pode sofrer transformações fotoquímicas, como a isomerização *trans-cis* da molécula (**Figura 2.6**). A forma *trans* possui uma absortividade molar superior à forma *cis*, fato que pode alterar seu perfil espectrofotométrico. Sendo assim, a literatura científica relata que após a irradiação este composto apresenta uma expressiva diminuição na absortividade molar, em consequência do predomínio da forma isomérica *cis* dessa molécula (HANSON *et al.*, 2015; KOCKLER *et al.*, 2012).

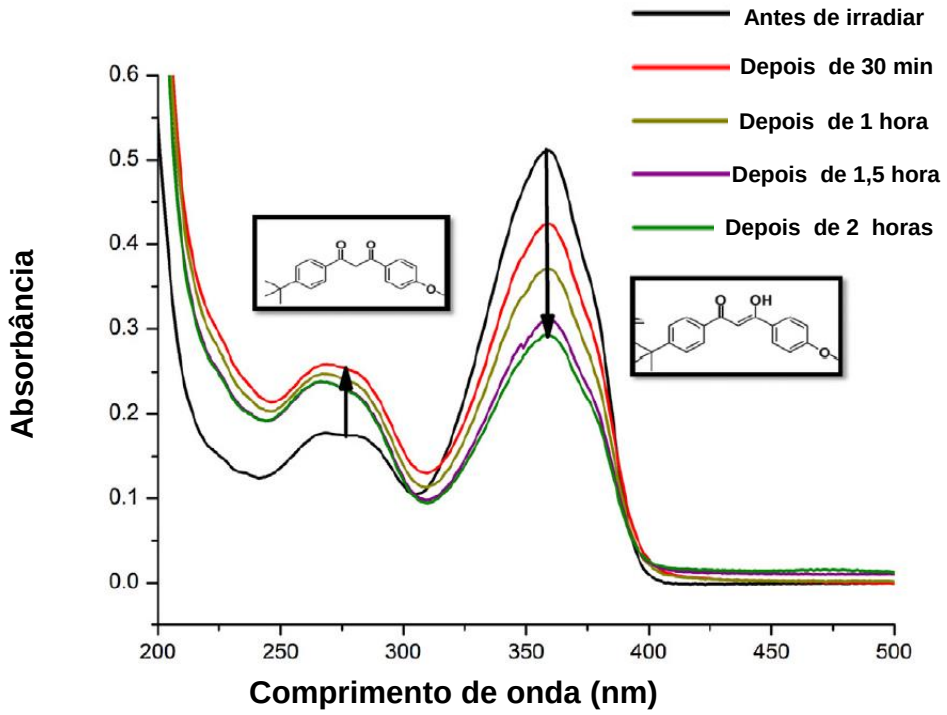


Figura 2.4 Espectro de absorção da avobenzona em vários tempos de irradiação sob atmosfera de oxigênio (ABID *et al.*, 2017).

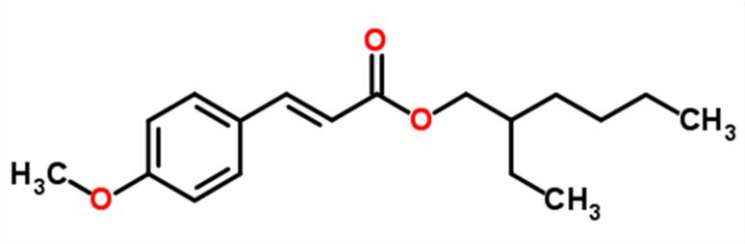


Figura 2.5 Estrutura química do *p*-metoxicinamato de octila (PALM; O'DONOGHUE, 2007).

Além disso, a associação do *p*-metoxicinamato de octila e da avobenzona é um modelo de fotoinstabilidade amplamente estudado. Além das transformações fotoquímicas que cada molécula apresenta, soma-se o fato dos produtos de degradação do filtro UVA formarem subprodutos de cicloadição com o cinamato, reduzindo drasticamente o perfil amplo espectro da mistura. Por conseguinte, diversos autores têm associado supressores do estado tripleto e singleto da dicetona, ou até mesmo, encapsular estes compostos em nanoestruturas, como estratégias para fotoestabilização (BLASI *et al.*, 2011; KOCKLER *et al.*, 2012; LHIAUBET-VALLET *et al.*, 2010; PERUGINI *et al.*, 2002; WU *et al.*, 2014).

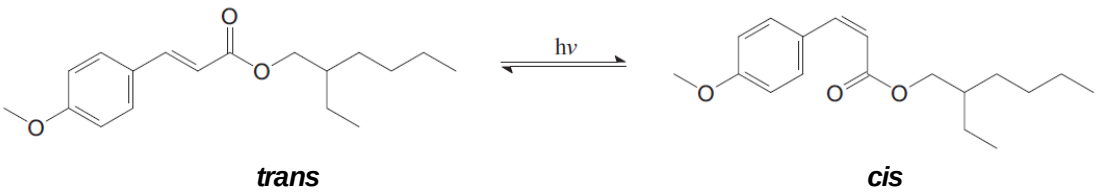


Figura 2.6 Transformação fotoquímica da molécula do *p*-metoxicinamato de octila da forma *trans-cis* (HANSON *et al.*, 2015; KOCKLER *et al.*, 2012).

2.3 Materiais mesoporosos

Na década de 90 os cientistas da *Mobil Oil Corporation* descobriram as peneiras moleculares mesoporosas da família M41S (KRESGE *et al.*, 1992).

Estes materiais mesoporosos são polímeros inorgânicos, constituídos por grupos siloxanos (Si-O-Si) em seu interior e por grupos silanóis (Si-OH) na superfície dos poros. Estes últimos são os responsáveis pela reatividade do material, conferindo à sílica estruturas polares, as quais são consideradas eficientes sítios de adsorção, podendo ser facilmente hidratada. A desigual distribuição de densidade eletrônica nos grupos silanóis faz com que os mesmos tenham comportamento ácido, o que confere reatividade ao material (AIROLDI; FARIAS, 2000; DA SILVA *et al.*, 2015; HUONG *et al.*, 2008; KRESGE *et al.*, 1992).

De acordo com Zhuravlev (2000), a principal propriedade da sílica está relacionada à sua superfície, o que leva ao interesse de estudar suas propriedades de adsorção, devido à alta estabilidade química, térmica e mecânica. A forma amorfa é geralmente a mais desejável para obtenção de novos materiais, pois apresenta maior área superficial, o que torna o material mais reativo.

A busca por materiais com homogeneidade no tamanho de poro, estreita distribuição de tamanhos de poros, alto volume de poros, estrutura amorfa e alta área superficial, características úteis para diferentes aplicações acadêmicas e industriais, fez com que surgisse uma nova classe de materiais nanoestruturados e mesoporosos (diâmetro de poro entre 2 e 50 nm) à base sílica (CIESLA; SCHÜTH, 1999; ZHURAVLEV, 2000).

De acordo com a IUPAC os materiais porosos são divididos em três classes:

- **Microporosos:** diâmetro de poro < 2 nm;
- **Mesoporosos:** diâmetro de poro entre 2 e 50 nm;
- **Macroporosos:** diâmetro de poro > 50 nm.

Um material poroso ideal deve apresentar elevada área superficial, alto volume de poro, tamanho de partícula apropriado, pureza, alta estabilidade térmica, hidrotérmica e mecânica, além de estreita distribuição de tamanho de poros para que o mesmo possa ser aplicado de forma seletiva como catalisador ou em separação de misturas gasosas, nas quais o tamanho molecular possa ser determinante (CIESLA; SCHÜTH, 1999).

A síntese de materiais mesoporosos é feita utilizando tensoativos, que atuam como agentes direcionadores de estrutura. A estrutura desses materiais depende exclusivamente da natureza do tensoativo. No caso da MCM-41, material mais estudado da classe M41S, utilizam-se sais de amônio quaternário como tensoativo, e meio reacional alcalino. Uma importante característica deste material é que o mesmo apresenta estrutura tubular hexagonal ordenada, porém, não há uma interconexão entre os tubos da estrutura, o que contribui para a diminuição da área interna do material e também para menor estabilidade da estrutura.

Em 1998, uma nova classe de materiais a base de sílica com mesoporos altamente ordenados foi sintetizada em meio ácido, pelo uso de copolímeros tri-blocos não iônicos comercialmente disponíveis (Pluronic P 123®). Esse copolímero atua como um tensoativo e é constituído por extensos blocos de óxido de polietileno e óxidos de polipropileno. Diferentes materiais com diversos arranjos periódicos foram preparados e denominados materiais SBA (Santa Barbara Amorfos). Esses materiais surgiram devido à dificuldade de se sintetizar MCM-41 com tamanho de poros maior do que 7 nm (MATOS *et al.*, 2001; ZHAO *et al.*, 1998a).

Os materiais denominados por SBA apresentam tamanho de poro entre 2 e 30 nm e foram denominados por SBA-11 (estrutura cúbica), SBA-12 (hexagonal 3D), SBA-15 (hexagonal) e SBA-16 (cúbica em forma de gaiola) (CIESLA; SCHÜTH, 1999). A SBA-15, material mais estudado da série, apresenta certa similaridade estrutural com a MCM-41, uma vez que ambas apresentam estrutura hexagonal (MATOS *et al.*, 2001).

Entretanto, a SBA-15 apresenta maior tamanho de poros e paredes de

poros mais espessas e interconectividade de poros, o que lhe confere maior estabilidade hidrotérmica, térmica e mecânica. Sua área superficial pode variar entre 690 e 1040 m^3 g^{-1}, volume de poros que pode chegar a 2,5 cm^3 g^{-1}, diâmetro de poros entre 4,6 e 30 nm e espessura de parede de poros entre 3,1 e 6,4 nm. Devido a estas características, a SBA-15 apresenta propriedades interessantes para sua aplicação como adsorvente, catalisadores e encapsulação de fármacos ou moléculas orgânicas (MARIANO-NETO *et al.*, 2014; TANG *et al.*, 2015; ZHAO *et al.*, 1998a, 1998b; ZUBRZYCKI; RESSLER, 2015).

Diferentemente da MCM-41, a SBA-15 é sintetizada em meio ácido. Durante a síntese, o tensoativo interage com a superfície do material, permanecendo adsorvido, enquanto, outra parte das moléculas desse composto orgânico preenche os poros ordenados da estrutura da sílica. Como a presença do tensoativo no material afeta as propriedades da sílica, é preciso a remoção total desta espécie. A primeira etapa de remoção envolve a lavagem com água destilada após a síntese. Este procedimento garante a remoção de grande parte do tensoativo que permanece na superfície. A remoção completa do material orgânico só ocorre numa segunda etapa que envolve a calcinação da SBA-15. Tal procedimento deve ser executado de forma controlada, para minimizar o encolhimento e/ou colapso da estrutura do material, ou danos estruturais que, consequentemente, poderão comprometer as propriedades físicas e químicas da SBA-15. A etapa de lavagem com água destilada também é necessária para remoção de Cl^-, uma vez que para determinadas aplicações do material a presença desta espécie pode ser um interferente, como é o caso do uso como catalisadores (BAE; HAN, 2007; BÉRUBÉ; KALIAGUINE, 2008).

A **Figura 2.7** ilustra o mecanismo de síntese da SBA-15. A protonação dos grupos silanois presentes na superfície da sílica e também dos grupos siloxanos promovem a atração dos íons cloretos (Cl^-) provenientes da ionização do HCl, formando uma dupla camada eletrônica. A formação da dupla camada promoverá a atração e acomodação da micela, moldando a estrutura do material. A interação entre as espécies envolvidas se dá por meio de ligações de

hidrogênio. Dessa forma, a força iônica do ânion proveniente do ácido utilizado é um fator determinante para a formação da estrutura desejada (ÁVILA, 2015; XIANG; LU; JIANG, 2012).

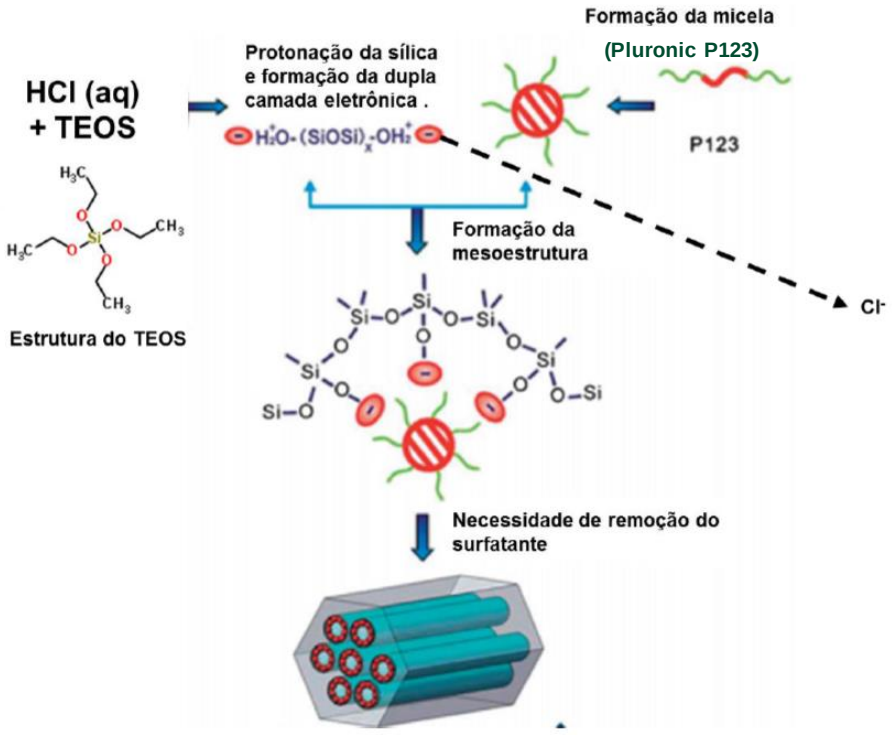


Figura 2.7 Mecanismo de síntese da SBA-15 (adaptado de (ÁVILA, 2015; XIANG; LU; JIANG, 2012).

Em relação à segurança deste material, diversos estudos *in vitro* indicam que a SBA-15 apresenta baixa toxicidade em baixas concentrações, no entanto, a toxicidade pode aumentar em concentrações mais elevadas. Estudos *in vivo* demonstraram que a toxicidade da SBA-15 está associada ao seu tamanho de partícula, sendo que partículas com tamanho entre 1 e 2 µm não apresentaram toxicidade (AL SHAMSI *et al.*, 2010; HUDSON *et al.*, 2008).

Adicionalmente, estudos realizados por Hudson e colaboradores (2008) mostraram que após a injeção subcutânea de materiais mesoporosos (SBA-15 e MCM-41) em ratos, observou-se através de cortes histológicos, diminuição

progressiva de material residual ao longo de 3 meses, o que significou que estes materiais apresentaram biocompatibilidade no tecido cutâneo.

Outro estudo *in vivo* conduzido por López e colaboradores (2006) avaliaram a segurança de materiais mesoporosos, a partir da implantação de SBA-15 próximo ao tecido cerebral (amígdala basolateral) em ratos. Após seis meses, os animais foram sacrificados e um estudo histopatológico foi realizado em torno do tecido cerebral próximo ao reservatório contendo o material mesoporoso. O resultado demonstrou que o implante não causou necrose, injúria tecidual e inflamação na região, o que permitiu constatar que a SBA-15 apresentou biocompatibilidade com o tecido cerebral (LÓPES *et al.*, 2006).

2.4 Encapsulação de filtros solares em materias nanoestrutrados

Os sistemas de liberação modificada tem se tornado cada vez mais importante na área farmacêutica. As formas farmacêuticas de liberação modificada podem apresentar inúmeras vantagens sobre as formas convencionais de liberação de fármacos, tais como, possibilitar a permanência de concentração plasmática do fármaco em sua concentração terapêutica por um maior período de tempo, originar a redução de efeitos colaterais e aumentar a biodisponibilidade destas substâncias (UHRICH *et al.*, 1999), além de fornecer muitas vezes uma maior proteção destes frente às reações de degradação no organismo (QIU *et al.*, 2001).

As sílicas mesoporosas amorfas têm sido estudadas como carreadoras de fármacos devido à sua natureza atóxica, estrutura mesoporosa ordenada, diâmetros e volume de poros ajustáveis e grandes áreas superficiais (DA SILVA *et al.*, 2015; KRESGE *et al.*, 1992). Com isto, as sílicas mesoporosas altamente ordenadas (SMAO) tornaram-se matrizes promissoras no desenvolvimento de sistemas de liberação modificada de fármacos (CHENG-YU LAI *et al.*, 2003; SONG *et al.*, 2016; VALLET-REGI *et al.*, 2001). O estudo das propriedades de armazenamento e liberação de fármacos em sílicas mesoporosas ordenadas como a MCM-41 e SBA-15 indicaram que o tamanho e o volume adequado dos

poros desses materiais os tornam suportes promissores para encapsulação e posterior liberação de uma grande variedade de moléculas com atividade terapêutica (ZHU *et al.*, 2005).

Conforme citado anteriormente, a sílica mesosporosa do tipo SBA-15 apresenta mais vantagens em relação à sílica mesoporosa do tipo MCM-41 (KRUK *et al.*, 2000), possibilitando a encapsulação de inúmeros fármacos nestas estruturas, permitindo ainda originar caminhos para a sua difusão (ZHU *et al.*, 2005).

Neto e colaboradores (2015) relataram a encapsulação do fármaco prednicarbato na sílica mesoporosa do tipo SBA-15. A inclusão do prednicarbato nos mesoporos da SBA-15 foi evidenciada pela redução da área superficial (S_{BET}) e volume de poros (V), em 24 e 16% respectivamente. Em combinação a esta técnica, outras ferramentas físico-químicas e analíticas foram utilizadas para caracterizar o material como: análise térmica (TG e DSC), espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR), difratometria de raios X e análise elementar. Além disso, demonstrou-se pela difratometria de raios X associado aos resultados de DSC, que as moléculas do fármaco encapsuladas no material mesoporoso permaneceram no estado amorfo. A termogravimetria mostrou que o material encapsulado apresentou-se mais estável termicamente do que fármaco livre. Este resultado é um indicativo de que a espécie foi encapsulada nos mesoporos da SBA-15. A fim de desenvolver um sistema de liberação modificada para o prednicarbato, os autores avaliaram o perfil de liberação do fármaco encapsulado em sílica por meio de ensaio *in vitro* com células de difusão, as quais receberam a formulação semissólida na forma de creme contendo o material mesoporoso com o fármaco encapsulado e não encapsulado. As quantidades liberadas do fármaco foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Deste modo, os resultados mostraram que a taxa de liberação da substância encapsulada foi menor do que aquela observada para o fármaco livre, consequentemente, isso apontou para a redução dos efeitos adversos e da degradação deste corticosteroide pelas estearases da pele.

Neste contexto, têm-se utilizado a sílica mesoporosa do tipo MCM-41 para encapsular protetores solares, com o objetivo de reduzir a fotodegradação, o contato entre o protetor solar e a pele e consequentemente evitar a absorção sistêmica (AMBROGI *et al.*, 2007).

Ambrogie e colaboradores (2007) investigaram a utilização da sílica mesoporosa MCM-41 no processo de adsorção e verificaram a influência da fotoestabilidade e da liberação de três protetores solares orgânicos como a benzofenona-3, benzofenona-2 e de ácido p-aminobenzóico (PABA). Estes protetores solares foram encapsulados na sílica mesoporosa MCM-41 e posteriormente caracterizados por análise térmica (TG/DTG), difratometria de raios X (DRX), espectroscopia no infravermelho (FTIR) e isoterma de adsorção/dessorção de N_2. Com o propósito de elevar a fotoestabilidade e segurança do metoxicinamato de octila, os mesmos autores avaliaram a encapsulação em sílica mesoporosa do tipo MCM-41, aplicando as técnicas de caracterização de DRX, FTIR e isoterma de adsorção de N_2, bem como estudos de liberação em membrana de celulose, nos quais obtiveram resultados satisfatórios no aumento da fotoestabilidade e diminuição da liberação deste composto (AMBROGI *et al.*, 2013b).

Outros materiais utilizados com este propósito são as β-ciclodextrinas que apresentam superfície hidrofílica e a cavidade central de sua estrutura hidrofóbica. Estudos têm demonstrado que a complexação destas estruturas aumenta significantemente a solubilidade e fotoestabilidade de protetores solares orgânicos, além de reduzir a liberação e penetração de benzofenona-3 através da membrana sem alterar as propriedades absorvedoras de radiação UV (CAL; CENTKOWSKA, 2008).

Estudos realizados por Berbicz e colaboradores (2011) avaliaram a aplicação da espectroscopia fotoacústica (PAS) para a caracterização dos complexos de inclusão de benzofenona-3 (BZ-3) e hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPCD) e analisaram a penetração percutânea *in vivo* deste produto e a sua reação na pele. Os resultados foram satisfatórios, pois a análise térmica e

espectroscopia fotoacústica sugeriram a complexação de BZ-3 com HPCD na relação estequiométrica de 1:2 (BERBICZ *et al.*, 2011).

2.5 Avaliação da eficácia fotoprotetora

Atualmente, existem técnicas *in vitro* e *in vivo* para avaliação da eficácia fotoprotetora de formulações cosméticas. Os principais parâmetros avaliados são o Fator de Proteção Solar (FPS), responsável por medir a proteção contra a radiação UVB; o Fator de Proteção UVA (UVA-PF), responsável por indicar o nível de proteção contra a radiação UVA; e o comprimento de onda crítico (λ crit), que fornece a amplitude de proteção considerando o espectro completo da radiação UV (UNITED STATES, 2011). Pela Legislação Brasileira, uma formulação pode ser classificada como fotoprotetora apenas se apresentar FPS acima de 6, com comprimento de onda crítico acima de 370 nm e UVA-PF equivalente a, no mínimo, 1/3 do FPS (BRASIL, 2012).

O ensaio para determinação do FPS é realizado *in vivo* com voluntários, uma vez que nenhuma metodologia *in vitro* se encontra validada para esta avaliação. O teste se baseia na habilidade de uma substância em proteger a pele de voluntários contra o eritema, principal efeito provocado pela radiação UVB. O FPS é definido como o quociente entre a dose eritematógena mínima (DEM) na pele de voluntários protegida com o protetor solar, e a DEM na pele ausente de proteção, sendo o DEM a quantidade de energia emitida pelo simulador solar UV (expressa em Joules cm^{-2}) requerida para a produção da primeira reação eritematógena perceptível e com bordas claramente definidas. O espectro gerado pelo simulador solar UV é filtrado e propicia emissão no intervalo de 290 a 400 nm, com limite de 1500 W m^{-2} no total da irradiação (BRASIL, 2012; UNITED STATES, 2011).

A avaliação da fotoproteção UVA pode ser determinada por meio de ensaios *in vivo*, pelo método de avaliação do *Persistent Pigment Darkening* - PPD. Este método é similar ao ensaio de FPS, porém com avaliação de reações

pigmentógenas na pele de voluntários, características da exposição à radiação UVA (COSMETIC EUROPE, 2011).

Ainda que metodologias *in vivo* permaneçam aprovadas para a avaliação da fotoproteção UVA, seu uso não é recomendado, uma vez que existem metodologias *in vitro* validadas e reguladas para este tipo de determinação, ao contrário do que ocorre para o ensaio do FPS (BRASIL, 2012; UNITED STATES, 2011). Ultimamente, o método espectrofotométrico de refletância difusa, acoplado à esfera de integração, é empregado para a determinação do UVA-PF e do comprimento de onda crítico. O espectrofotômetro utiliza lâmpada de arco de xenônio, com faixa espectral de 250 a 450 nm, capaz de processar os dados de transmitância em cada comprimento de onda e transformá-los em parâmetros de eficácia fotoprotetora. O *design* ótico do equipamento está demonstrado na **Figura 2.8** (SPRINGSTEEN *et al.*, 1999)**.**

Figura 2.8 Ilustração do *design* ótico do espectrofotômetro de refletância difusa com esfera de integração (adaptado de SPRINGSTEEN *et al.*, 1999).

Além de fornecer parâmetros de eficácia fotoprotetora de forma rápida, econômica e segura (uma vez que poupa os voluntários da exposição às radiações UV empregadas nas análises *in vivo*), os ensaios *in vitro* também apresentam aplicação na pesquisa e desenvolvimento de formulações fotoprotetoras, fornecendo, inclusive, valores estimados de FPS para a triagem

e aperfeiçoamento das formulações previamente à sua submissão aos testes clínicos *in vivo* (ANDREASSI, 2011; TANNER, 2006).

Estes e outros fatores fizeram dos métodos *in vitro* um advento na pesquisa em fotoproteção, possibilitando o estudo aprofundado das formulações e, consequentemente, dos efeitos deletérios da radiação UV no organismo humano (SPRINGSTEEN *et al.*, 1999).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo geral, avaliação de protetores solares contendo filtros encapsulados/incorporados em matriz de sílica mesoporosa ordenada do tipo SBA-15.

3.2 Objetivos específicos

- Síntese da sílica mesoporosa e caracterização por TG/DTG, DTA, DSC, microscopia eletrônica de transmissão (MET), microscopia eletrônica de varredura (MEV), medidas de adsorção/dessorção de N_2, espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXRD) e difratometria de raios X alto ângulo (DRX);
- Desenvolvimento do processo de encapsulação/incorporação dos filtros solares em sílica mesoporosa ordenada (SMAO) e caracterização do material obtido no processo empregando as técnicas de TG/DTG, DSC, DTA, análise elementar, FTIR, medidas de adsorção/dessorção de N_2, SAXRD e DRX;
- Preparo das formulações moldadas na forma de bastão fotoprotetor;
- Análise funcional *in vitro* dos filtros encapsulados/incorporados na SBA-15 (dispersos em C_{12}-C_{15} Alquil benzoato) e das formulações dermocosméticas fotoprotetoras dos filtros solares encapsulados/ incorporados na SBA-15;
- Determinação da segurança das formulações fotoprotetoras por método *in vitro* HET-CAM - *Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane;*
- Avaliação da permeação e retenção cutânea *in vitro* dos filtros solares isolados e encapsulados/incorporados na SBA-15 em células de difusão vertical, empregando pele da orelha suína e pele abdominal humana;
- Investigação do perfil de biodistribuição das formulações em pele suína e pele humana *ex-vivo.*

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os solventes e reagentes empregados neste trabalho estão listados na **Tabela 4.1.**

Tabela 4.1 Solventes e reagentes utilizados.

Nome químico	Procedência
Etanol	Synth®
C_{12}-C_{15} Alquil benzoato (Ritamollient TN®)	Brasquim®
Solução fisiológica (Cloreto de sódio 0,9% p/v)	Pharma Special®
Hidróxido de sódio	Synth®
Lauril sulfato de sódio (1,0% p/v)	Synth®
Cloreto de sódio	Pharma Special®
Ácido Clorídrico	Synth®
Isopentano	Sigma Aldrich®
Tetraetilortosilicato (TEOS)	Sigma Aldrich®
Padrão de referência da avobenzona (T = 99,2%)	Sigma Aldrich®
Padrão de referência do *p*-metoxicinamato de octila (T = 98,0%)	Sigma Aldrich®
Padrão de referência da benzofenona-3 (T = 99,0%)	Sigma Aldrich®
Polióxido de etileno – polióxido de propileno – polióxido de etileno (Pluronic® P123)	BASF®
Água ultrapura	MILLIQ®
Metanol	Fisher Scientific®
Acetonitrila	Fisher Scientific®
Ácido fórmico	Fisher Scientific®
Acetona	Chromasol®/Synth®
Dodecil sulfato de sódio	Sigma Aldrich®
Ceteth-20 (BRIJ® C20) – Tensoativo não-iônico	Croda®
Solução tampão fosfato salina (PBS)	Sigma Aldrich®
Ovos fecundados de fornecedor padronizado	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP

As amostras dos filtros solares estão listadas na **Tabela 4.2** e apresentaram grau de pureza cosmético ou farmacêutico.

Tabela 4.2 Amostras de filtros solares de diferentes fornecedores.

Nome químico	Procedência	INCI	Fórmula molecular	Massa Molar (g mol^{-1})
Avobenzona	Pharma Special®	*Butyl methoxydiben-zoylmethane*	$C_{20}H_{22}O_3$	310,39
Benzofenona-3	Mapric®	*Benzophenone-3*	$C_{14}H_{12}0_3$	228,25
p-Metoxicinamato de octila	Mapric®	*Ethylhexyl methoxycinnamate*	$C_{18}H_{26}O_3$	290,40

As matérias-primas empregadas no preparo do bastão fotoprotetor estão listadas na **Tabela 4.3**, e apresentaram grau de pureza cosmético ou farmacêutico.

Tabela 4.3 Matérias-primas empregadas no preparo do bastão fotoprotetor.

INCI	Matéria-prima (nom comercial ou químico)	Fabricante e/ou Fornecedor
Butyl Stearate, Copernicia Cerifera (Carnauba) Wax, Ethylene/VA Copolymer, Euphorbia Cerifera (Candelilla) Wax, Isopropyl Palmitate, Ozokerite, Paraffin, Paraffinum Liquidum (Mineral) Oil,	Covalip®	LCW®
Ceresin	Cera de ceresina	Fortinbrás®
Synthetic Candelilla Wax	Cera de candelila	Fortinbrás®
Synthetic Beeswax	Cera de abelhas	Via Farma®
Ricinus Communis Seed Oil	Óleo de rícino	Mapric®
Ceteareth – 20	Ceto estearilico etoxilado 20OE	PharmaSpecial®
Propylparaben	Propilparabeno	Mapric®
Tocopheryl Acetate	Vitamina E acetato oleosa	Roche®
Lanolin	Lanolina	Mapric®
*Cetyl Acetate,Acetylated Lanoli*n	Álcool de Lanolina	Mapric®
Butylene Glycol Cocoate	Cocoato de glicerila	Brasquim®
BHT	*BHT*	PharmaSpecial®

Legenda: Nomenclatura conforme INCI (*International Nomenclature of Cosmetic Ingredients).*

Ademais, foi utilizado bastão fotoprotetor comercial na qualidade de produto de referência (FR). Os ingredientes presentes nesta formulação são: *avobenzone* (3,0%), *homosalate* (15,0%), *octilsalicilate* (5,0%), *otocrylene* (10,0%), *oxybenzone* – benzofenona-3 (3,0%), *adipic acid/diglycol crosspolymer, beeswax, C12-15 alkyl benzoate, diethylhexyl 2,6-naphthalate, dimethicone, eopentyl glycol diethylhexanoate, neopentyl glycol diisostearate, octyldodecyl neopentanoate, ozokerite, polyethylene, BHT* e fragância.

As técnicas e os equipamentos empregados no presente trabalho de pesquisa estão listados na **Tabela 4.4.**

Tabela 4.4 Técnicas e Equipamentos empregados.

Técnica	Equipamento
Termogravimetria/Termogravimetria Derivada (TG/DTG)	Termobalança modelo TGA 51(Shimatdzu®)
Análise Térmica Diferencial (DTA)	Termobalança modelo DTG 50 (Shimatdzu®)
Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	Célula calorimétrica modelo DSC-50
Análise Elementar	Analisador Perkin-Elmer® modelo 2400
Espectroscopia no infravermelho (FTIR)	Espectofotômetro Bomem®, modelo MB100
Medida de adsorção de N_2	Analisador de Adsorção Micromeritics – Modelo ASAP® 2020
Difração de laser	Particle analyser - Cilas®
Difração de raios X a alto ângulo (DRX)	Siemens/Bruker® modelo D5000
Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	LEO STEREOSCAN modelo 440
Espectrofotômetro de refletância difusa com esfera de integração	Labsphere® UV 2000S
Câmara de fotoestabilidade	Atlas Suntest® CPS+
Cromatógrafo líquido de alta eficiência, detector espectrofotométrico de arranjo de diodos	HPLC/UV P680A LPG-4 pump equipped with an ASI-100 autosampler (Dionex®)
Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	FEI Tecnai™ G2 Sphera, (Eindhoven, The Netherlands)
Cromatógrafo líquido de ultra desempenho (UHPLC) acoplado a espectrômetro de massa tandem quadrupolo modelo Waters XEVO® TQ-S micro	UHPLC-MS/MS, (Waters Acquity® UPLC®)
Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	FEI Tecnai™ G2 Sphera, (Eindhoven, The Netherlands)
Criótomo	Microm HM 560 Cryostat®

Os aparatos e dispositivos, entre outros utilizados neste trabalho estão listados na **Tabela 4.5.**

Tabela 4.5 Aparatos e dispositivos utilizados.

Equipamentos	Marcas e modelos
Agitador mecânico	IKA® RW 20n
Balança analítica	Shimadzu® AUY 220
Balanças semi-analíticas	Gehaka® BG 4000 e Ohaus® ARD 110
Placa de aquecimento e agitação magnética	IKA® HS7
Placas de polimetilmetacrilato (PMMA)	HelioScreen® Helioplate HD 6
Sistema purificador de água	Gehaka® OS20 LX
Sistema purificador de água	Merck Millipore® Mili-Q® Simplicity UV
Incubadora de ovos	Chocmaster Nework®, Modelo: Y39UQ
Estufa	Nova ética ®
Forno tubular	EDG®- 10P-S
Câmera microscópio	Dino-Lite®, Modelo: AM-211
Banho ultrassônico	Ultrassonic cleaner Unique®
Agitador mecânico	IKA® RW 20n
Centrífuga	Eppendorf Centrifuge 5804®
Sistema purificador de água	Merck Millipore® Mili-Q® Simplicity UV
Estufa	Nova ética ®
Vortex	Genius 3 (IKA®)

4.2 Métodos

4.2.1 Síntese da SBA-15

A obtenção da SBA-15, conforme Fluxograma ilustrado na **Figura 4.1**, foi baseado no método de síntese proposto por Matos e colaboradores (2001), no qual o tensoativo foi solubilizado em solução de ácido clorídrico (2 mol L^{-1}) sob agitação a 25 ºC. Após total solubilização do tensoativo, ainda sob agitação, foi adicionado Tetra-Etil Orto-Silicato (TEOS), como fonte de sílica. A mistura foi

transferida para um frasco de Teflon e submetida ao tratamento hidrotérmico entre 80 e 120 ºC por um período de tempo de 48 horas. Após o tratamento hidrotérmico, o material foi filtrado e lavado com água destilada, de modo a remover o excesso de tensoativo. O material foi seco em estufa a 80 ºC e em seguida submetido ao processo de calcinação em forno tubular, inicialmente sob atmosfera de N_2 e, posteriormente, sob atmosfera de ar, de modo a remover o tensoativo utilizado como molde. Na calcinação o material foi aquecido lentamente a 1°C min^{-1} até 540 °C, visando conservar as propriedades do material. Em 540 °C, o material foi mantido por ao menos 2 horas. A utilização do N_2 permite que a decomposição do tensoativo ocorra de modo menos agressivo, visto que nestas condições o processo é endotérmico, portanto, contribui para conservar as propriedades da sílica. Após período de aquecimento sob N_2, a atmosfera foi trocada para ar e o material foi mantido a 540 °C por pelo menos 2 horas para eliminação de resíduos carbonáceos formados pela decomposição térmica do tensoativo.

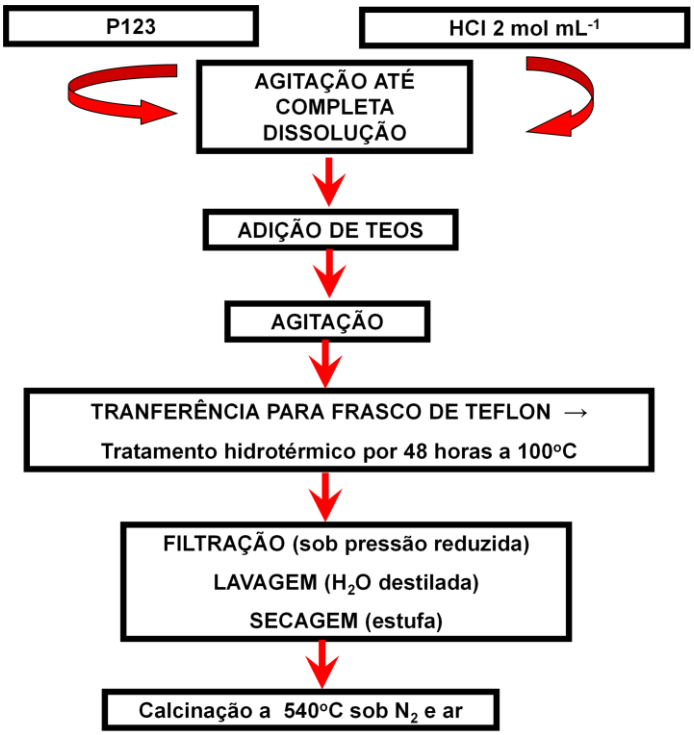


Figura 4.1 Fluxograma da síntese de sílica mesoporosa altamente ordenada do tipo SBA-15.

Considerando a quantidade das espécies envolvidas em mol, foi testada a seguinte proporção estequiométrica:

1,0 TEOS/0,0167 Pluronic P 123/ 5,82 HCl/ 190 H_2O

Por meio de ensaios de TG/DTG e análise elementar de C, H e N foi possível verificar a eficiência do processo de calcinação. No final do processo, a SBA-15 apresentou-se na forma de pó fino e de coloração branca.

4.2.2 Processos de encapsulação/incorporação dos filtros solares com a sílica mesoporosa do tipo SBA-15

O processo de encapsulação/incorporação dos filtros solares (BZF-3, AVO e MCO) na SBA-15 ocorreu inicialmente solubilizando estes em um solvente de polaridade compatível. Entre os solventes disponíveis, foi selecionada a acetona por ser um solvente com constante dielétrica baixa e de fácil evaporação. O processo de solubilização foi pela adição do solvente aos filtros sob agitação mecânica, até completa solubilização dos compostos. Utilizou-se aproximadamente 100 mL de acetona e misturas de SBA-15 e filtros solares obedecendo à razão mássica descrita na **Tabela 4.6**. A encapsulação foi conduzida sob leve agitação mecânica na temperatura de 25 ºC por 48 h e, posteriormente, foi feito a evaporação do solvente, também a 25 ºC. Após o processo de evaporação, obteve-se um produto na forma de pó (AMBROGI et al., 2013a, 2013b).

Além disso, com o intuito de avaliar a eficiência do processo de encapsulação foram realizadas misturas físicas entre a SBA-15 e os respectivos filtros solares na proporção 1:1. As misturas físicas foram elaboradas em gral de porcelana com auxílio de um pistilo.

Tabela 4.6 Associação de SBA-15 e filtros solares, suas respectivas razões mássicas previstas e identificação das amostras.

Amostras	Razão mássica
SBA-15 e avobenzona (SBA-15/AVO)	1:1 (50%:50%)
	6% (94%:6%)
SBA-15 e benzofenona-3 (SBA-15/BZF-3)	1:1 (50%:50%)
	1:2 (25%:75%)
	12,8% (87 2% :12, 8%)
SBA-15 e p-metoxicinamato de octila (SBA-15/MCO)	2:1 (75%:25%)
	1:1 (50%:50%)

4.3 Técnicas de caracterização

As técnicas descritas a seguir foram utilizadas para a caracterização da SBA-15, filtros solares e materiais obtidos após processo de encapsulação/ incorporação dos filtros à matriz de sílica.

4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens de MEV foram registradas com a utilização de Microscópio Eletrônico de Varredura LEO STEREOSCAN modelo 440, com filamento de tungstênio, operando sob pressão reduzida. O modo de operação foi de 10 KV, utilizando detector de elétrons secundários. Os ensaios foram executados na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP).

4.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As imagens de MET foram realizadas utilizando um Microscópio Eletrônico de Transmissão FEI Tecnai™ G2 Sphera (Eindhoven, The Netherlands), equipado com uma câmera digital de alta resolução (2000 x 2000 pixels), usando método de coloração negativa. Resumidamente, 5 mg de SBA-

15 foi suspendido em 100 µL de acetona e colocado em uma grade de cobre revestido de carbono ionizado (0,3 Torr, 400 V por 20 s). Desta forma, uma gota de 100 µL de solução aquosa saturada de acetato de uranil (corante) foi colocada em contato com a grade por 1 segundo e depois novamente uma segunda gota de 100 µL por 30 segundos. O excesso de solução de coloração foi removido e a grade foi secada à temperatura ambiente antes de gravar as imagens de MET. As imagens foram realizadas no Departamento de Bioimagem da Universidade de Genebra, Suíça, sob supervisão do Dr. Christoph Bauer.

4.3.3 Análise do tamanho de partícula

As medidas foram executadas em equipamento *Particle Size Analyser* 1090 (Cilas, Orleans, França), no módulo de via úmida. Foi necessário o desenvolvimento de método de preparo para o meio dispersante e para amostra da sílica mesoporosa do tipo SBA-15. O meio utilizado para a leitura e o preparo foi uma dispersão aquosa da sílica (o material é insolúvel em água). Para a preparação da análise, empregou-se aproximadamente 100 mg de SBA-15 e 40 mL de água, em réplica de três. Após adição do veículo, a amostra foi deixada sob agitação por 30 segundos em ultrassom. Durante a medida foi utilizado o ultrassom para evitar agregação das partículas. O tamanho das partículas foram determinadas através do modelo matemático de *Fraunhofer*. As medidas foram executadas no Laboratório de Desenvolvimento e Inovação Farmacotécnica (Deinfar), da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP), sob a coordenação do Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz.

4.3.4 Termogravimetria/Termogravimetria derivada (TG/DTG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

As curvas TG/DTG-DTA foram obtidas a partir do sistema simultâneo TG-DTA, modelo DTG-50 (Shimadzu), no intervalo de temperatura de 25 a 900 °C com razão de aquecimento (β) de 10 °C min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de ar (vazão de 50 mL min^{-1}), utilizando cadinho de platina contendo cerca de 10 mg

para as amostras dos filtros e SBA-15 e de 15 mg para os filtros solares encapsulados.

4.3.5 Análise elementar

Os teores dos elementos C, N e H das amostras foram obtidos utilizando o equipamento *Elemental Analyzer*, modelo 2400 CHN (Perkin Elmer, San Diego, USA) no Laboratório da Central Analítica do IQ-USP.

4.3.6 Isoterma de adsorção/dessorção de nitrogênio

Foram feitos ensaios para obtenção das isotermas de adsorção/dessorção de N_2 tanto para SBA-15 como para os filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15. Os ensaios foram realizados em um analisador de adsorção Micromeritics, modelo ASAP 2020. Foi realizada a desgaseificação à pressão reduzida a 35°C (AMBROGI *et al.*, 2013a/b). As isotermas foram obtidas a -196°C (77 K), pressão relativa entre 0,009 e 0,992, utilizando N_2 com 99,999% de pureza como gás adsorvedor em diferentes pressões parciais até a saturação. Para cada pressão parcial de N_2 foi medido o volume do gás adsorvido após um tempo de equilíbrio (10 segundos). A dependência da quantidade do gás adsorvido na superfície à pressão uniforme e temperatura constante é denominada isoterma de adsorção.

Para uma determinada faixa de pressão parcial do gás essa dependência é linear e permite o cálculo do número de moléculas do gás que formam uma monocamada cobrindo toda a superfície da amostra. Este valor, multiplicado pelo valor da área de uma única molécula de gás, resulta na área total da superfície do sólido, que dividido pela massa da amostra dá origem a sua área específica ($m^2\ g^{-1}$). O método utilizado para o cálculo da superfície específica (S_{BET}) é denominado BET (*Brunauer*, *Emmet* e *Teller*). O método de *Barret*, *Joyner* e *Halenda* (BJH) foi utilizado para calcular o diâmetro e o volume (V) e a distribuição de tamanho de poros, a partir das isotermas obtidas

experimentalmente, utilizando o modelo de Kelvin de preenchimento de poro. O volume total dos poros (V cm^3 mg^{-1}) das amostras foi determinado a partir das isotermas de N_2 obtidas em uma pressão relativa (p/p_o) de 0,99. As medidas foram realizadas no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da Universidade de São Paulo (IF-USP).

4.3.7 Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXRD)

A técnica de espalhamento de raios X a baixo ângulo foi utilizada para a caracterização da amostra de SBA-15, dos filtros isolados e os mesmos compostos encapsulados no material mesoporoso. Os ensaios foram realizados em um equipamento Nanostar da *Bruker Instruments* e com um detector de filamento bidimensional. As amostras foram submetidas em uma câmara mecânica à pressão reduzida (~10-2 Torr) a fim de evitar o espalhamento de ar. Os parâmetros utilizados para essas medidas foram: comprimento de onda do raios X (λ) = 1,542 Å; 1,5 kW, colimado por um sistema de espelhos da Gobel e um sistema de 3 fendas. Os ensaios foram realizados no IF-USP.

4.3.8 Espectroscopia Molecular na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos nos Laboratórios da Central Analítica do IQ-USP empregando-se o espectrômetro de marca Bomem e modelo MB102. As amostras foram diluídas em KBr e analisadas na forma de pastilha, na região de 4.000 a 400 cm^{-1} e com resolução do número de varreduras de 64.

4.3.9 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC foram obtidas a partir da célula calorimétrica, modelo DSC-50 modelo DSC-50 (Shimadzu), no intervalo de temperatura de 25 a 500 ºC com razão de aquecimento (β) de 10°C min^{-1}, sob atmosfera dinâmica de N_2 e vazão de 100 mL min^{-1}. Foi utilizado cadinho de Al aberto, contendo cerca de 1,7 mg para as amostras dos filtros e SBA-15 e de 2,8 mg para os filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 (misturas físicas).

4.3.10 Difratometria de raios X

As amostras foram prensadas em um porta-amostra de plástico e os dados foram coletados em um difratômetro da Bruker, modelo D8-Focus, de raio 200,5 mm, com tubo de geração CuKα, filtro de níquel (para absorver as radiações branca e Kβ), comprimento de onda médio λ = 1,5418 Å (Cu Kα), com fenda de divergência de 0,2 mm e fenda de espalhamento de 8 mm, fenda Soller primária e secundária de 2,5°, com detector sensível à posição (PSD) LynxEye, com aceitação angular de 4.1°, operando em 40 kV e 40 mA de tensão e corrente do tubo, respectivamente. A varredura, em modo contínuo, foi feita com tempo de exposição de 2 s por passo médio (~0,02° em 2θ) na faixa entre 3° e 60° (2θ). O tempo total de aquisição foi da ordem de 1:40 h. As medidas de difratometria de raios X foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios X, pertencente ao Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo.

4.4 Adição das amostras encapsuladas/incorporadas na SBA-15 em ingrediente cosmético

As amostras e C_{12}-C_{15} benzoato de alquila foram colocados em tubos de ensaio e submetidos à agitação mecânica por 30 segundos. Sequencialmente, os tubos de ensaios foram colocados em ultrassom por 15 minutos a fim de que os materiais encapsulados/incorporados ficassem dispersos no C_{12}-C_{15} benzoato de alquila.

Os filtros solares foram empregados nas concentrações permitidas pela legislação vigente (BRASIL, 2012). A **Tabela 4.7** descreve as concentrações correspondente dos filtros solares encapsulados/incorporados e a concentração dos filtros solares livres, que foram adicionadas no ingrediente cosmético. As quantidades de filtros solares presentes nos materiais encapsulados e as misturas físicas foram confirmadas a partir dos resultados de termogravimetria e análise elementar.

Tabela 4.7 Concentração dos filtros solares isolados e a massa correspondente dos filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 e misturas físicas adicionados ao ingrediente cosmético

Amostras	Concentração (%m/m)
***p*-metoxicinamato de octila (MCO)**	**5,0**
SBA-15/MCO(1:1)	12,0*
SBA-15/MCO (2:1)	15,0*
Mistura física SBA-15/MCO (1:1)	12,0*
Benzofenona-3 (BZF-3)	**4,0**
SBA-15/BZF-3 (1:1)	12,0**
SBA-15/BZF-3 (1:2)	6,0**
SBA-15/BZF-3 (12,8%)	34,4**
Mistura física SBA-15/BZF-3 (1:1)	8,5**
Avobenzona (AVO)	**3,0**
SBA-15/AVO(1:1)	6,0***
SBA-15/AVO (6%)	43,3***
Mistura física SBA-15/AVO(1:1)	8,5***

*** = massa correpondente a 5% de COM**
**** = massa correspondente a 4% de BZF-3**
***** = massa correspondente a 3% de AVO**

4.5 Preparo das formulações fotoprotetoras moldadas na forma de bastão

Formulações fotoprotetoras moldadas sob a forma dermocosmética de bastões foram preparadas com a finalidade de se obterem produtos macroscopicamente estáveis e de amplo espectro de ação, partindo-se da associação dos filtros solares orgânicos encapsulados/incorporados na SBA-15. Foram preparadas cinco formulações (**F1** a **F5**) moldadas na forma de bastão fotoprotetor, sendo que **F**1 formulação base (sem adição de ativos), **F2** base associado a SBA-15, **F3** base contendo os filtros solares (AVO, BZF-3 e OMC), **F4** composta de filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 e a **F5** combinação de filtros solares e SBA-15 (mistura física) na base.

A **Tabela 4.8** apresenta os insumos empregados no preparo em escala laboratorial das formulações da presente pesquisa, assim como sua concentrações e classe cosmética. O modo de preparo das formulações base e contendo os filtros solares não encapsulados possuíram procedimento diferenciado em relação as formulações contendo SBA-15, mistura física (SBA-15/filtros) e filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15.

Todos os componentes, com exceção da vitamina E, foram pesados e transferidos para um béquer de vidro. A mistura foi posteriormente aquecida até 75-80 ºC para fusão dos agentes graxos de consistência (ceras). A mistura foi resfriada até 65°C para a adição da vitamina E (para evitar a degradação deste ingrediente), e agitou-se até a homogeneização. Verteu-se a mistura no recipiente do estojo plástico com tampa plástica e base giratória para bastão, previamente lubrificados com silicone volátil com auxílio de um pincel e aquecido a, aproximadamente, 30 ºC, de modo rápido, preservando a homogeneidade do bastão obtido (WILKINSON; MOORE, 2011). O molde foi colocado no refrigerador para acelerar a solidificação das formulações. Cada bastão possuiu massa aproximadamente de 6,2 g.

No caso das formulações contendo a SBA-15, SBA-15/filtros e os filtros encapsulados/incorporados na SBA-15, algumas etapas durante o preparo foram

modificadas em relação ao processo anteriormente descrito. Para possibilitar a adequada homogeneização do material mesoporoso nas formulações, a totalidade do cocoato de glicerila, lanolina e parte do óleo de rícino foram pesados e transferidos para um gral de porcelana. A SBA-15 e/ou filtros encapsulados/incorporados foram pesados em papel de pesagem e, posteriormente, adicionados aos poucos no gral de porcelana com os compostos mencionados anteriormente, sob agitação manual com auxílio do pistilo, até obter dispersão homogênea. Esta dispersão foi adicionada sob agitação manual com auxílio de um bastão de vidro aos demais componentes de consistência graxa fundidos, sob aquecimento em temperatura de até 75-80ºC até a completa homogeneização da mistura. Após esta etapa, a mistura foi retirada do aquecimento e prosseguiu-se o mesmo procedimento descrito anteriormente.

Tabela 4.8. Composição qualitativa e quantitativa (% p/p) dos bastões fotoprotetores

Componentes			F1 (% p/p)	F2 (% p/p)	F3 (% p/p)	F4 (% p/p)	F5 (% p/p)
	Nome do componente	**Função**					
Formulação base	Cera de candelila	Agente de consistência graxo	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
	Cera de ceresina		5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
	Cera de abelhas		5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
	Covalip®94		3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
	Álcool Ceto20OE		5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
	Cocoato de glicerila	Emoliente	10,00	19,00	10,00	19,00	19,00
	Óleo de rícino	Veículo e agente suspensor					
	Álcool de Lanolina	Emoliente	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
	Lanolina	Emoliente/ formador de película	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50
	Propilparabeno	Conservante	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
	BHT	Antioxidante	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
	Vitamina E acetato oleosa	Antioxidante	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Compostos ativos	*p*-Metoxicinamato de octila	Compostos ativos	-	-	5,00	-	5,00
	Avobenzona		-	-	3,00	-	3,00
	Benzofenona-3		-	-	4,00	-	4,00
	SBA-15		-	15,00		-	15,00
	SBA-15/BZF-3 (1:2)		-	-	-	6,00*	-
	SBA-15/MCO (2:1)		-	-	-	15,00*	-
	SBA-15/AVO (1:1)		-	-	-	6,00*	-

*** Concentração correspondente aos filtros solares isolados**

4.6 Métodos analíticos

4.6.1 Quantificação dos filtros solares por CLAE e UHPLC/MS/MS

O sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), Dionex®, consistiu em uma bomba P680A LPG-4 equipada com um auto amostrador ASI-100, com compartimento de coluna termostatizado TCC-100 e um detector espectrofotométrico UV170U. A detecção dos filtros solares foram obtidas em 238,0 nm, à temperatura de 20,0 ± 1,0°C. A optimização das condições de separação em sistema de gradiente foram obtidas pela utilização de uma fase móvel que compreendia dois solventes: solvente A (água) e solvente B (metanol a 100%) com um fluxo de 1,0 mL min^{-1} (**Tabela 4.9**). Utilizou-se coluna de fase reversa C-18 (125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm- modelo LiChrospher100, RP-18e). Os dados obtidos foram avaliados pelo programa *Chromeleon* software. Esta técnica foi utilizada para quantificar as formulações fotoprotetoras (PERUCHI; RATH, 2012).

Tabela 4.9 Fase móvel empregada para o método de CLAE.

Tempo (min)	Fluxo (mL/min)	% Fase A (Água)	% Fase B (Methanol)
0	1,0	30	70
7	1,0	15	85
19	1,0	15	85
19,5	1,0	30	70
20	1,0	30	70

Para aumentar a sensibilidade e especificidade, a cromatografia líquida de ultra desempenho acoplado a espectroscopia de massa (UHPLC-MS/MS) foi usado para quantificar os filtros solares retidos e permeados através da pele durante os experimentos permeação e biodistribuição *in vitro*. A análise UHPLC-MS/MS foi realizada utilizando um sistema Waters Acquity® UPLC® (Baden-Dättwil,

Suíça) compreendendo uma bomba de solvente binário, um gerenciador de amostras e um detector quadrúpolo tandem Waters XEVO® TQ-S Micro (Baden-Dättwil, Suíça). A separação isocrática foi realizada usando uma coluna Waters XBridge® BEH C18 2,1 × 50 mm contendo partículas de 2,5 µm. A coluna foi mantida à temperatura ambiente e a fase móvel consistiu em uma solução aquosa contendo 0,01% de ácido fórmico e acetonitrila (40:60 v/v). A taxa de fluxo e o volume de injeção foram: 0,3 mL min^{-1} e 5,0 µL, respectivamente. A detecção por espectrometria de massa foi realizada com ionização por eletropulverização em modo de íons positivos utilizando a monitorização de reação múltipla (MRM). As configurações de detecção para AVO, BZF-3 e MCO e os seus tempos de retenção são apresentadas na **Tabela 4.10** (BRATKOVICS; SAPOZHNIKOVA, 2011).

Tabela 4.10 Parâmetros utilizados para detecção dos filtros solares por MS/MS.

Parâmetros	BZF-3	AVO	MCO
Natureza dos íons precursores	$[M-H]^+$	$[M-H]^+$	$[M-H]^+$
Íons precursores (*m/z*)	228,9	311,0	291,1
Íons fragmentares (*m/z*)	150,9	160,9	178,9
Energia de colisão (*V*)	18	18	15
Voltage do cone (*V*)	16	16	15
Voltage capilar (kV)	2,79	2,79	2,79
Temperature capilar (ºC)	300	300	300
Dessolvatação do fluxo de gás (L/h)	600	600	600
Fluxo do gás cone (L/h)	30	30	30
Colisão do gás (L)	0.15	0.15	0.15
Tempo de retenção (minutos)	1,31	2,81	2,91

AVO = avobenzona; MCO = metoxicinamato de octila; BZF-3 = benzofenona-3.

4.6.2 Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de filtros solares por CLAE/UV e UHPLC/MS/MS

4.6.2.1 Linearidade

Foram preparadas soluções de AVO, BZF-3 e MCO com padrões de referência primário. As soluções estoque de cada filtro solar foram preparadas separadamente na concentração de 1,0 mg mL^{-1} em metanol. Para obtenção da curva analítica soluções metanólicas dos três compostos foram elaboradas nas seguintes concentrações: BZF-3 (2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 75 e 100,0 µg mL^{-1}), MCO (5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 75 e 100,0 µg mL^{-1}) e AVO (7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0 e 50,0 µg mL^{-1}). As amostras das soluções foram injetadas (20,0 µL) no cromatógrafo a líquido de alta eficiência (CLAE), em triplicata. A curva analítica dos filtros solares foram construídas a partir dos valores da concentração em função da área do pico. O cálculo da equação da reta da curva analítica foi executado por meio da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2016; PERUCHI; RATH, 2012).

Para a técnica de UHPLC-MS/MS foi preparada solução estoque em acetonitrila de concentração de 500,0 ng mL^{-1} dos três compostos antissolares (conforme descrito anteriormente). A partir desta solução estoque foram realizadas sucessivas diluições (10,0; 15,0; 20,0; 40,0; 50; 60,0; 80,0 e 100,0 ng mL^{-1}) em solução de acetonitrila do homogeinizado de pele, com intuito de pesquisar os interferentes da pele. O método foi validado utilizando a soluções extrativas da pele em acetonitrila (KANDEKAR *et al.*, 2018; LAPTEVA *et al.*, 2014).

4.6.2.2 Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção foi calculado segundo a **Equação 4.1** (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005):

$$LD = {}^{3,3 \times \sigma}/_{CA}$$

Equação 4.1 Limite de detecção.

onde LD é o limite de detecção, σ é o desvio padrão médio obtido por meio das curvas analíticas e CA é o coeficiente angular da equação da reta.

O limite de quantificação foi avaliado por meio da análise de diferentres concentrações dos filtros solares até o valor onde as amostras apresentaram valores de precisão e exatidão adequados (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005).

4.6.2.3 Especificidade e pesquisa de interferentes

No método de validação por CLAE, a especificidade foi obtida pela comparação dos cromatogramas da solução de concentração de 100,0 µg mL^{-1} dos filtros solares (padrão de referência primário) e das formulações em bastões contendo os filtros solares(encapsulados/incorporados e não encapsulados), em triplicata.

A pesquisa de interferentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz foi realizada utilizando amostras das formulações do bastão fotoprotetor sem adição dos filtros solares. As amostras foram diluídas em metanol com auxílio do banho ultrassônico (Ultrasonic Cleaner - Unique®), filtradas em membrana de 0,45 µm (Milipore®) e injetadas (20,0 µL) no cromatógrafo, em triplicata. Os cromatogramas foram analisados visualmente.

Para o método de validação por UHPLC/MS/MS a pesquisa de interferentes foi através da comparação dos cromatogramas da solução em acetonitrila do homogeneizado da pele centrifugado e solução tampão pH 7,4 (PBS+BRIJ® C20) e os filtros solares (padrão de referência) adicionados nestas soluções.

4.6.2.4 Precisão e exatidão

A precisão é o parâmetro que avalia a proximidade dos resultados em uma série de medidas. Foram considerados dois níveis da precisão: repetibilidade (precisão intracorrida), a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação; e precisão intermediária (precisão intercorridas), que representa a concordância entre os resultados em dias distintos de análise (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005).

A determinação da precisão intracorrida e intercorridas foi realizada pelo preparo de soluções dos filtros solares, padrões de referência primários, em três concentrações distintas: 2,5; 50,0 e 100,0 µg mL^{-1} para BZF-3, 5,0; 50,0 e 100,0 µg mL^{-1} para MCO e 7,5; 30,0 e 100,0 para AVO (método de CLAE). No caso do método de validação por UHPLC/MS/MS, as concentrações dos filtros solares foram: 10,0; 50,0 e 100,0 ng mL^{-1}. As amostras foram avaliadas em triplicata, no mesmo dia e em dias diferentes. A precisão foi calculada como desvio padrão relativo (DPR, %) de acordo com a **Equação 4.2** (BRASIL, 2003; INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005).

$$\text{DPR (\%)} = \frac{DP}{C} \times 100$$

Equação 4.2 Desvio padrão relativo (DPR, %).

onde DP é desvio padrão e C é a média das concentrações.

A exatidão de um método analítico representa a proximidade dos resultados obtidos em relação ao valor considerado verdadeiro. Assim como foi descrito no ensaio de precisão, as concentrações dos filtros solares foram as mesmas utilizadas para o ensaio de exatidão. A exatidão (%) foi realizada em triplicata, envolvendo ensaios intra e interdias (BRASIL, 2003; INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005) e calculada conforme a **Equação 4.3**.

$$\text{Exatidão (\%)} = \frac{C}{CT} \times 100$$

Equação 4.3 Exatidão (%).

onde C é a média das concentrações determinada experimentalmente e CT é a concentração teórica.

O desvio não deve exceder 15%, exceto para o limite de quantificação, para o qual se admite desvios menores ou iguais a 20% (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005).

4.7 Recuperação dos filtros solares a partir da pele pelo método de UHPLC/MS/MS

Para a recuperação dos filtros solares a partir da extração da pele, foram utilizadas amostras de pele de porco com área de 2,0 cm^2, em triplicata, nas quais foram aplicadas concentrações conhecidas dos filtros solares em acetona (10,0; 50,0 e 100,0 ng mL^{-1}). A acetona foi utilizada por ser um solvente de fácil evaporação e retenção dos filtros solares na pele. Subsequentemente, as amostras de pele foram cortadas em pequenos pedaços e extraídas com 5,0 mL de acetonitrila *overnight* (aproximadamente 8 horas), sob agitação de 300 rpm a 25 ^{o}C. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas à 10.000 rpm por 15 minutos e analisadas por UHPLC/MS/MS. A quantidade de filtros solares recuperados foram comparados com a quantidade teórica (LAPTEVA *et al.*, 2014).

4.8 Quantificação dos filtros solares nas formulações moldadas na forma de bastão fotoprotetor por CLAE

A determinação da concentração dos filtros solares foi obtida das amostras dos bastões fotoprotetores F3 e F4. Alíquotas de, aproximadamente, 15,0 mg dos bastões foram colocados em balão volumétrico de 10,0 mL. As amostras foram diluídas em metanol com auxílio do banho ultrassônico (Ultrasonic Cleaner - Unique®), filtradas em membrana de 0,45 µm (Milipore®) e injetadas (20,0 µL) no cromatógrafo, em triplicata (SALVADOR; DE LA OSSA; CHISVERT, 2003).

4.9 Eficácia fotoprotetora estimada *in vitro*

A eficácia fotoprotetora *in vitro* das amostras (formulações e dispersões dos filtros solares) foram determinadas por meio da espectrofotometria de refletância difusa com esfera de integração. Foi utilizado, como substrato, placas de poli (metacrilato de metila) (PMMA), Helioplate®, com área de 25,0 cm^2. Alíquotas de 1,3 mg cm^{-2} das amostras (dispersos no ingrediente cosmético e formulações) foram aplicadas uniformemente sobre o substrato, na forma de filme fino, em movimentos circulares sobre a superfície da placa. Após secagem de 20 minutos, protegidas da luz, as placas foram submetidas à leitura espectrofotométrica, utilizando uma placa de PMMA sem produto, como branco de leitura. Os registros dos valores espectrofotométricos da transmitância foram realizados em intervalo de comprimento de onda entre 250 e 450 nm, na progressão de 1 nm, com leituras em triplicata (DIFFEY; GRICE, 1997; SPRINGSTEEN *et al.*, 1999; VELASCO *et al.*, 2008b). Os dados foram convertidos em valores estimados de fator de proteção solar (FPS) e comprimento de onda crítico (λ crit) das amostras (COSMETIC EUROPE, 2011; DIFFEY *et al.*, 2000; SPRINGSTEEN *et al.*, 1999). O FPS estimado *in vitro* foi obtido a partir da **Equação 4.4** (SPRINGSTEEN *et al.*, 1999), comprimento de onda crítico estimado das amostras foi determinado pela **Equação 4.5** (UNITED STATES, 2011).

$$FPS = \frac{\int_{290nm}^{400nm} E\lambda S\lambda d\lambda}{\int_{290nm}^{400nm} E\lambda S\lambda T\lambda d\lambda}$$

Equação 4.4 Cálculo do FPS estimado *in vitro*

onde: Eλ = eficácia eritematógena espectral da CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*); Sλ = irradiância solar espectral; Tλ = transmitância espectral da amostra; dλ = intervalo dos comprimentos de onda.

$$\int_{290}^{\lambda c} A(\lambda)d\lambda = 0.9 \int_{290}^{400} A(\lambda)d\lambda$$

Equação 4.5 Cálculo do comprimento de onda crítico estimado

onde: A(λ) = absorbância espectral da amostra; d(λ) = intervalo dos comprimentos de onda.

4.10 Ensaio de fotoestabilidade

Após o ensaio de fotoproteção *in vitro*, as placas com amostras e formulações foram irradiadas durante 1 hora com simulador solar (Suntest® CPS+, Atlas, Linsengericht, Alemanha) equipado com lâmpada de xenônio, filtro ótico para reduzir os comprimentos de onda mais curtos do que 290 nm e um filtro para bloquear os raios IV, evitando efeitos térmicos. A emissão do simulador solar foi mantida a 580 W m^{-2} correspondente a uma radiação UV de 55 W m^{-2} (dose de irradiação, 198 kJ m^{-2}), de acordo com os valores previamente relatados para testes de fotodegradação (SCALIA; MEZZENA, 2010). Os parâmetros de FPS e de comprimento de onda crítico foram analisados pós-irradiação e comparados com os resultados de pré-irradiação. As medidas foram realizadas em triplicata, e nove pontos diferentes por placa foram medidos para

cada amostra (COSMETIC EUROPE, 2011; DE OLIVEIRA *et al.*, 2016; NISHIKAWA *et al.*, 2013).

4.11 Avaliação do potencial de irritação ocular por método *in vitro* HET-CAM - *Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane*

Ovos de galinhas fecundados do tipo *legorne branca* foram incubados por 10 dias a 37º C e 65% de umidade relativa (UR) na incubadora de ovos Chocmaster®. Após o período de incubação, os ovos foram abertos com auxílio de uma pinça e a membrana da casca foi hidratada com 300 µL de solução fisiológica (NaCl 0,9% p/v), sendo retirada delicadamente com a pinça. Posteriormente, as formulações bastão/SBA-15 e bastão/filtros encapsulados/incorporados na SBA-15 foram diluídas em triglicerídeos do ácido cáprico e caprílico na concentração de 0,05 g mL^{-1} (5,0% p/v) e, sequencialmente, depositadas sobre a membrana corioalantoide. Os controles positivos do teste foram realizados com solução de dodecilsulfato de sódio (SDS) a 1,0% (p/v), solução hidróxido de sódio (NaOH) a 1,0% (p/v) e o controle negativo com solução fisiológica (NATIONAL INSTITUTE OF ENVIRONMENTAL HEALTH SCIENCES (NIEHS), 2006). O ensaio foi realizado em triplicata.

Os eventos vasculares (hemorragia, lise ou coagulação) foram gravados por 5 min (câmera DigiMicro 2.0 Scale) e analisados posteriormente. O índice de irritação ocular (IS) foi calculado de acordo com a **Equação 4.6** (KALWEIT *et al.*, 1990; NATIONAL INSTITUTE OF ENVIRONMENTAL HEALTH SCIENCES (NIEHS), 2006).

$$\mathrm{IS} = \frac{(301 - \mathrm{H}).5 + (301 - \mathrm{L}).7 + (301 - \mathrm{C}).9}{300}$$

Equação 4.6 Índice de irritação ocular (**IS**), onde: **H** = tempo (s) para iniciar um evento hemorrágico; **L** = tempo (s) para iniciar uma lise vascular; **C** = tempo (s) para iniciar uma coagulação.

De acordo com a **Equação 4.6**, os produtos podem ser classificados de acordo com o **Tabela 4.11**.

Tabela 4.11 Classificação do potencial de irritação ocular (KALWEIT *et al.*, 1990).

Índice de irritação ocular (IS)	Classificação
0 – 0,9	Não irritante
1 – 4,9	Levemente irritante
5 – 8,9	Moderadamente irritante
9 – 21	Fortemente irritante

4.12 Avaliação da permeação e retenção cutânea *in vitro* dos filtros solares

A avaliação da permeação e retenção cutânea *in vitro* dos filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 e filtros solares não encapsulados foi realizada no *Skin bioengineering group* da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de Genebra, Genebra, Suiça. Foram utilizadas amostras de pele de orelhas de porco e pele abdominal humana, como modelos de membranas. O experimento foi dividido em duas etapas, a saber: (1) Avaliação do tempo de aplicação das formulações nos tempos 6, 12 e 24 horas; (2) Estudo comparativo entre a pele humana e de porco.

Orelhas de porco frescas foram obtidas de um matadouro local (CARRE; Rolle, Suíça). As amostras de tecido cutâneo foram lavadas sob água corrente, amostras não íntegras foram eliminadas. Após a coleta, as amostras de pele foram limpas, removendo-se a cartilagem com auxílio de um bisturi. Os pelos foram removidos com auxílio de cortador/aparador de pelos. As amostras de pele excisadas foram então extraídas (Berg & Schmid HK 500; Urdorf, Suíça) em discos circulares de 32 mm.

Amostras de pele humana foram coletadas imediatamente após cirurgia no Departamento de Cirurgia Plástica, Estética e Reconstrutiva, Hospital Universitário de Genebra (Genebra, Suíça). O estudo foi aprovado pelo Comitê Central de Ética em Pesquisa (CER: 08-150 (NAC08-051) do Hospital Universitário de Genebra). A hipoderme e o tecido gorduroso foram removidos e as amostras foram perfuradas em discos circulares de 32 mm.

As amostras de pele (suína ou humana) em formato circulares foram subsequentemente cortadas horizontalmente com um cortador Thomas Stadie-Riggs (Thomas Scientific; Swedesboro, NJ, EUA) com uma espessura de aproximadamente, 1,0 mm e armazenadas a -20°C até o uso. Antes do início do experimento, amostras de pele (pele de porco ou humana) foram descongeladas à temperatura ambiente e equilibradas em solução de NaCl 0,9% por 30 minutos. (KANDEKAR *et al.*, 2018; LAPTEVA *et al.*, 2014).

As amostras da pele (suína ou humana) foram montadas em células de difusão de Franz (Milian SA; Meyrin, Suíça) com uma área de difusão de 2,0 cm^2 (**Figura 4.2**). A fase receptora foi preenchida com 11,0 mL de solução tampão fosfato salina sonicada (PBS, pH 7,4) contendo 0,5% de BRIJ® C20 (tensoativo não iônico) para manter *sink conditions*.

Após o equilíbrio, aproximadamente 5,7± 0,20 mg cm^{-2} da formulação contendo filtros solares não encapsulados (F3) ou a formulação contendo filtros solares encapsulados/icorporados na SBA-15 (F4), foram aplicados nos compartimentos doadores e deixados em contato com a pele durante o tempo de aplicação determinado (6, 12 e 24 horas). Para a formulação referência (FR) aproximadamente 6,51 ± 0,23 mg cm^{-2} foi aplicada nos compartimentos doadores e deixados em contato com a pele por 12 horas. A evaporação das fases doadora e receptora foi prevenida pela utilização de aparatos oclusivos. A quantidade correspodente em µg cm^{-2} e a concentração em % de AVO, BZF-3 e MCO nas formulações estão descritas na **Tabela 4.12**.

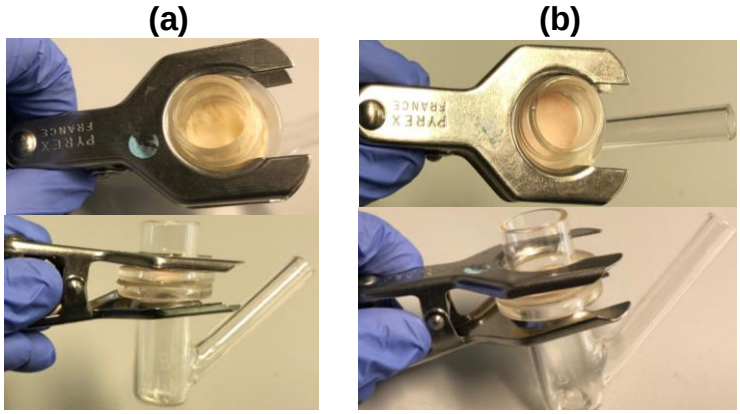


Figura 4.2 Amostras da pele humana **(a)** e pele suína **(b)** montadas em células de difusão de Franz (Milian SA; Meyrin, Suíça) com uma área de difusão de 2,0 cm^2 (**Fonte:** autoria própria).

Tabela 4.12 Descrição da quantidade correspondente de cada filtro solar aplicada na pele e a concentração dos filtros UV nas formulações.

Formulações	C filtros UV na formulações (%)			Quantidade de filtros UV aplicados na pele (µg cm^{-2})		
	BZF-3	MCO	AVO	BZF-3	MCO	AVO
F3	3,8	4,5	3,3	220 ± 0,01	350 ± 0,01	150 ± 0,00
F4	3,5	6,0	2,7	220 ± 0,01	250 ± 0,01	190 ± 0,01
FR	3,0	-	3,0	170 ± 0,07	-	170 ± 0,07

F1 = formulação contendo filtros solares**; F2 =** formulação contendo os filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15; **FR =** formulação referência. C = concentração

As células de difusão foram dispostas sobre placa de agitação magnética (agitação de 400 rpm), com compartimento receptor submerso em banho termostatizado a 37ºC.

Após a conclusão do experimento, alíquotas de 1,0 mL foram retiradas da fase receptora com intuito de quantificar a permeação de AVO, BZF-3 e MCO. As amostras foram centrifugadas à 10.000 rpm durante 15 min, e subsequentemente analisadas por UHPLC-MS/MS. As peles foram retiradas das células de difusão e cada amostra foi cuidadosamente lavada com auxílio de hastes flexíveis de pontas de algodão embebidas em solução de dodecil

sulfato de sódio a 2,0%, para assegurar a completa remoção da formulação residual na superfície da pele. Subsequentemente, amostras de pele foram secas com papel absorvente e cortadas em pequenos pedaços. Os filtros solares retidos na pele foram extraídas sob agitação à temperatura ambiente em 4,0 mL de acetonitrila *overnight* (aproximadamente 8 horas). O procedimento de extração foi validado (**Item 4.7**) e as amostras extraídas foram centrifugadas à 10.000 rpm por 15 min e diluídas antes da análise por UHPLC-MS /MS (BRASIL, 2003; KANDEKAR *et al.*, 2018; LAPTEVA *et al.*, 2014).

4.12.1 Avaliação do tempo de aplicação das formulações nos tempos 6, 12 e 24 horas

Com a finalidade de avaliar a cinética de permeação e retenção cutânea dos filtros solares em pele de porco , as formulações (**F3** e **F4**) foram aplicadas nos tempos 6, 12 e 24 horas. Os experimentos foram conduzidos em réplicas entre 5 e 6 e realizados conforme descrito no item **4.12**.

4.12.2 Estudo comparativo entre a pele humana e de porco

Para a realização do estudo comparativo de permeabilidade dos filtros solares empregando a pele humana e de porco utilizaram-se dois tipos de formulações na forma de bastão fotoprotetor: formulação referência (**FR**), contendo como filtros solares a AVO e BZF-3; e a formulação **F4**. O número de réplicas por amostra foi de 8 e o tempo de exposição foi selecionado de acordo com o estudo de cinética de permeação e retenção cutânea (12 horas). As condições experimentais foram realizadas conforme descritas no item **4.12**.

4.13 Perfil de biodistribuição cutânea dos filtros solares na pele humana e de porco

A investigação do perfil de biodistribuição foi realizado ao final dos experimentos de permeação e retenção cutânea,com um número de réplicas entre 4 a 5. A área de 1,2 cm^2 foi extraída a partir de 2,0 cm^2 das amostras de tecido cutâneo (de porco e humana). Estes discos de pele foram congelados em isopentano até ao seu ponto de congelamento (-160°C) com nitrogênio líquido e montados em um criótomo, de modo a se obter 2 cortes horizontais de 20 µm e 19 cortes horizontais de 40 µm (plano XY), **Figura 4.3**. Aproximadamente, 21 cortes da pele de cada amostra foram obtidos, partindo da superfície da pele até uma profundidade de 800 µm, o que forneceu amostras de tecido cutâneo a partir do estrato córneo (0 a 40 µm), epiderme viável (80 a 160 µm) e derme (200 a 800 µm). Cada porção foi coletada em *ependorfs* individuais contendo 200 µL de acetonitrila e os filtros solares depositados em cada porção foram extraídos sob agitação à temperatura ambiente (*overnight*). As amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm por 10 minutos, e posteriormente submetidas à doseamento por UHPLC-MS/MS (JACOBI et al., 2007; LAPTEVA et al., 2014).

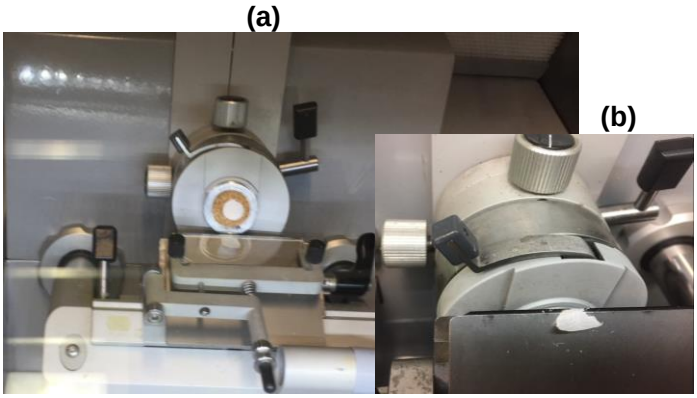


Figura 4.3 Discos de pele de porco congelados em isopentano e montados em um criatomo (**a**) cortes da pele partindo da superfície da pele até uma profundidade de 800 µm (**b**) (**Fonte:** autoria própria).

4.14 Análise estatística dos resultados

O tratamento estatístico foi realizado pelo programa Minitab®, versão 17. As análises foram conduzidas em triplicata, com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) para a determinação de resultados estatisticamente significativos. Para os estudos de permeação cutânea *in vitro* foi utilizado o tratamento estatístico dos resultados pelos programas: Minitab®, versão 17, e Microsoft® Office Excel 2017. As análises foram conduzidas em réplica de 4 a 8, com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) para a determinação de resultados estatisticamente significativos (BOX; HUNTER, 2005)

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de filtros solares livres, filtros nas misturas físicas, filtros encapsuladas/incorporadas na SBA-15 foram submetidas às técnicas de caracterização descritas no **item 4.3.** No entanto, as técnicas de MEV, MET e de avaliação do tamanho de partícula por difração a laser foram utilizadas apenas para a caracterização da amostra de SBA-15 pura.

5.1 Caracterização da SBA-15 por Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As micrografias obtidas por MEV logo após a síntese da SBA-15 estão ilustradas na **Figura 5.1**. As imagens foram ampliadas 1000 (A), 2500 (B), 5000 (C) e 10 000 (D) vezes, respectivamente e mostraram a presença dominante de bastonetes com distribuição regular de tamanho entre 2 e 3 μm, característicos de amostras de SBA-15, assim como o previsto pela literatura (DANELUTI et al., 2017; DE ÁVILA; SILVA; MATOS, 2016; NETO et al., 2016).

A **Figura 5.2** apresenta a imagem de MET da SBA-15, possibilitando a obtenção de informações sobre a forma do material. É possível observar uma estreita distribuição de tamanhos de poros, os quais estão arranjados de maneira simétrica e formando uma estrutura hexagonal 2D. A imagem obtida apresenta características similares às apresentadas na literatura para a SBA-15 (FREITAS *et al.*, 2016; KIWILSZA *et al.*, 2013; ZHAO *et al.*, 1998b).

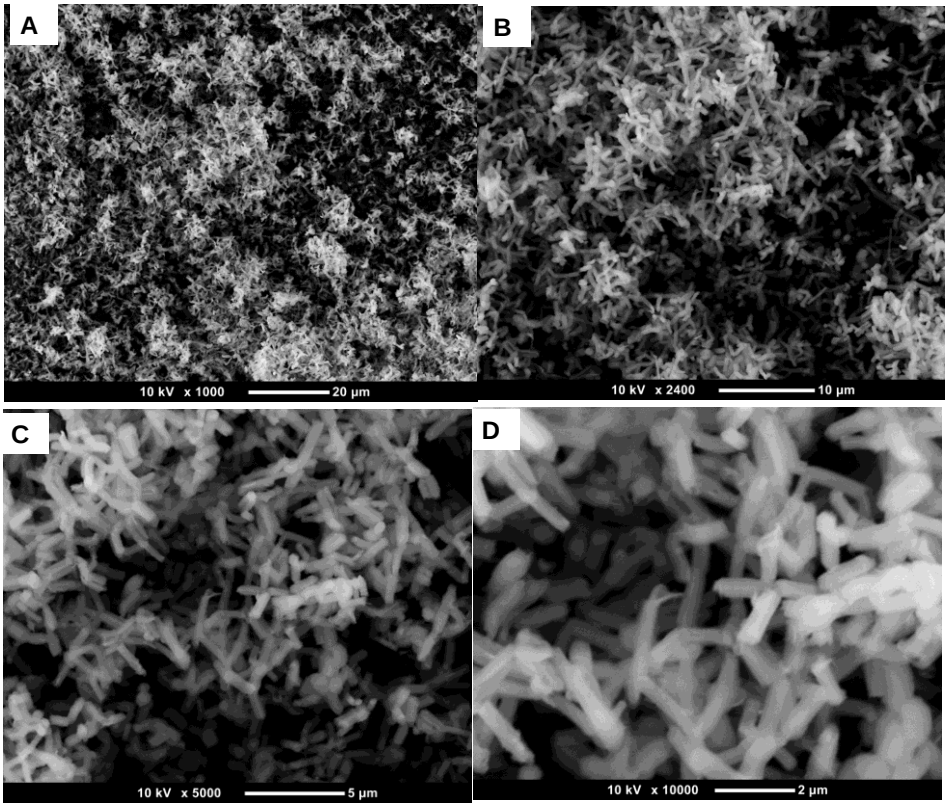


Figura 5.1 Imagens obtidas por MEV para sílica mesoporosa do tipo SBA-15 ampliadas 1000 (A), 2500 (B), 000 (C) e 10 000 (D) vezes (DANELUTI et al., 2017).

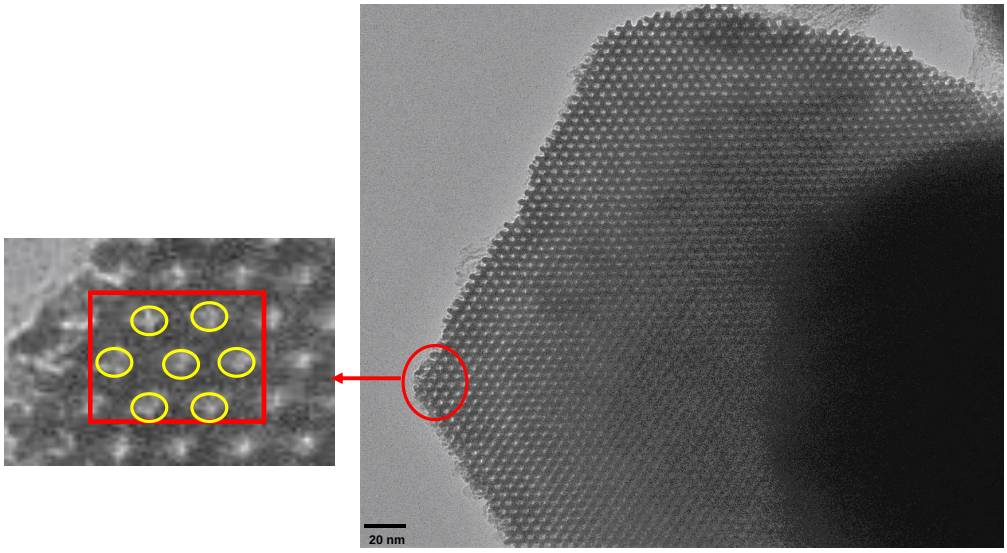


Figura 5.2 Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão(MET) da amostra de SBA-15. Detalhe ilustra o arranjo hexagonal dos mesoporos (**Fonte:** autoria própria).

5.2 Avaliação do tamanho de partícula por difração a laser

Na **Tabela 5.1** estão listados os valores dos diâmetros das partículas nas porcentagens 10, 50 e 90%, correspondentes às cinco medidas realizadas. Os valores indicaram que os tamanhos de partículas foram semelhantes no diâmetro a 10, 50 e 90%. O diâmetro médio das partículas do material mesoporoso foi de aproximadamente 15,7 µm. A taxa de obscuração foi de 5% o que significa que o método foi adequado (entre 5 e 30 % é considerado ideal para o experimento). A distribuição granulométrica é a apresentada na **Figura 5.3** em que se observa claramente que as cinco medidas realizadas geraram curvas bem definidas. Constatou-se que o material mesoporoso apresentou polidispersão de larga distribuição.

Tabela 5.1 Dados sobre a medida do diâmetro a 10, 50, 90% e médio das partículas em µm da amostra de sílica do tipo SBA-15, taxa de obscuração e desvio padrão para cada medida (n = 3).

Amostra	Obscuração (%)	∅ a 10% (µm)	∅ a 50% (µm)	∅ a 90% (µm)	$∅_{médio}$ (µm)
SBA-15	**5**	**1,8±0,05**	**16,0±0,37**	**29,0 ±0,86**	**15,7± 0,46**

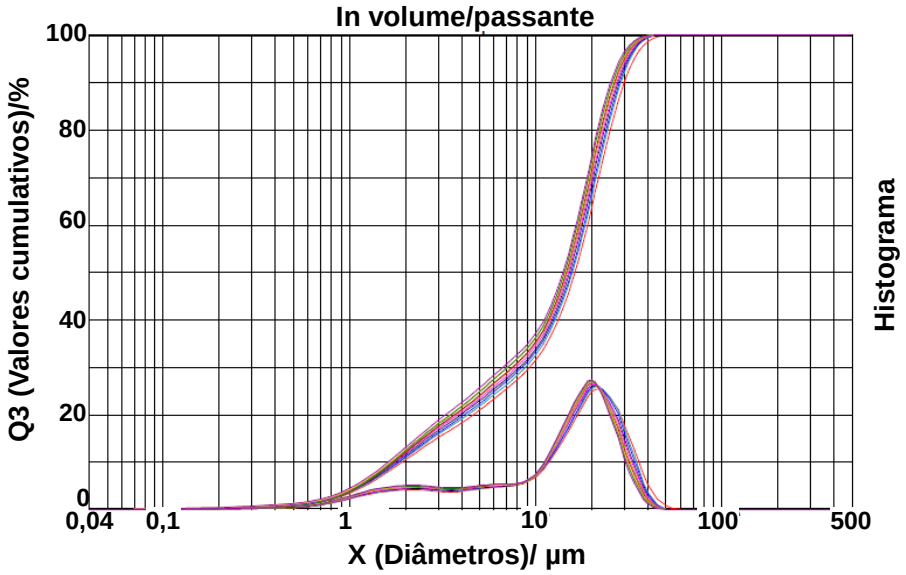


Figura 5.3 Distribuição granulométrica das medidas da amostra de sílica do tipo SBA-15 obtido pelo método da dispersão líquida.

5.3 Termogravimetria

A **Figura 5.4** ilustra a sobreposição das curvas TG/DTG das amostras de SBA-15, BZF-3, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (12,8%) e da mistura física entre a BZF-3/SBA-15. As curvas TG/DTG correspondentes a sílica SBA-15 evidenciaram apenas um evento de perda de massa de 15,5%, que ocorreu entre 21 e 117 ºC (T_{pico} DTG = 65 ºC) devido a eliminação de água livre ou fisiossorvida na superfície do material (MORITZ; LANIECKI, 2012; NETO *et al.*, 2016; NETO; NOVÁK; MATOS, 2009). A amostra de BZF-3 apresentou apenas um evento de perda de massa entre 178 e 308 ºC (T_{pico} DTG = 281 ºC) e perda de massa de 99,02%.

Entretanto para a amostra de SBA-15/BZF-3 (1:1) foram observados três eventos de perda de massa. O primeiro ocorreu entre 20 e 90 ºC (T_{pico} DTG = 48 ºC) e com Δm de 5,5%. Este evento corresponde à eliminação de água superficial presente no material mesoporoso, assim como foi observado na amostra de SBA-15 pura. O segundo evento ocorreu com Δm de 20,4% entre 104 e 316 ºC (T_{pico} DTG = 248 ºC). Este evento corresponde à decomposição térmica da benzofenona-3 que se encontra fora dos mesoporos da SBA-15. O terceiro e último evento de perda de massa (Δm = 12,8%), que ocorreu entre 316 e 503 ºC (T_{pico} DTG = 374 ºC), corresponde à decomposição térmica deste composto que está no interior dos poros da SBA-15. O valor total de BZF-3 correspondeu à cerca 33,2%. O teor de produto final na temperatura de 700 ºC foi de 61,3% que corresponde a percentagem total de SBA-15. Este resultado indica que o material foi preparado, efetivamente, na proporção m/m de 1,85 de SBA-15 para 1 de benzofenona-3. De acordo com esse resultado, constatou-se que a proporção de material mesoporoso utilizado na preparação da amostra foi praticamente o dobro em relação a BZF-3. No entanto, a codificação da amostra foi mantida como SBA-15/BZF-3 (1:1).

Comparando os resultados de termogravimetria dos três materiais (SBA-15, BZF-3 e SBA-15/BZF-3), **Figura 5.4**, pode-se inferir que houve estabilização da BZF-3 na matriz de sílica, principalmente porque cerca de 1/3 da substância

está encapsulada nos mesoporos. E, ainda, o início da decomposição térmica dessa porção ocorre cerca de 120 ºC acima da temperatura em que se inicia o evento térmico para o material que está na superfície da matriz de sílica.

De acordo com esses resultados, concluiu-se que 12,8% de benzofenona-3 encontram-se nos mesoporos da SBA-15. Para um melhor entendimento desse material, decidiu-se preparar uma amostra adicionando à matriz de sílica 12,8% de BZF-3. As curvas TG/DTG desta amostra evidenciaram dois eventos de perda de massa. O primeiro corresponde à eliminação de água superficial presente no material mesoporoso. O segundo evento foi referente à decomposição térmica da benzofenona-3 presente dentro dos mesoporos (Δm = 12,3%) que ocorreu entre 256 e 503 ºC (T_{pico} DTG = 320 ºC). Contudo observou-se que este evento ocorreu de forma antecipada, comparado à amostra de SBA-15/BZF-3 na proporção 1:1, que apresentou uma T_{pico} DTG = 375 ºC, ou seja, maior do que aquela observada para a amostra encapsulada na concentração de 12,8%. Por outro lado, pode-se afirmar que todo o material adicionado está presente nos poros da SBA-15.

Em contrapartida, a amostra SBA-15/BZF-3 (1:2) apresentou quatro eventos de perda de massa. O primeiro ocorreu entre 21 e 90 ºC (T_{pico} DTG = 42 ºC) e com perda de massa de aproximadamente 2%. O segundo evento ocorreu 156 e 277 ºC (T_{pico} DTG = 261 ºC) e Δm de 38%. O terceiro evento ocorreu forma sobreposta ao segundo com Δm de 21,7% entre 277 e 320 ºC. O segundo e terceiro evento correspondem à decomposição térmica da benzofenona-3 que se encontra fora dos mesoporos da SBA-15. O quarto e último evento ocorreu entre 352 e 433 ºC (T_{pico} DTG = 381 ºC) e com Δm de 6,6%, este evento correspondeu à decomposição térmica da benzofenona-3 que está no interior dos poros da SBA-15. O valor total de BZF-3 correspondeu a cerca 66,3%. O teor de produto final na temperatura de 700 ºC foi de 31,7% que corresponde a percentagem total de SBA-15. Este resultado indica que o material foi preparado na proporção m/m de 1 de SBA-15 para 2 de benzofenona-3.

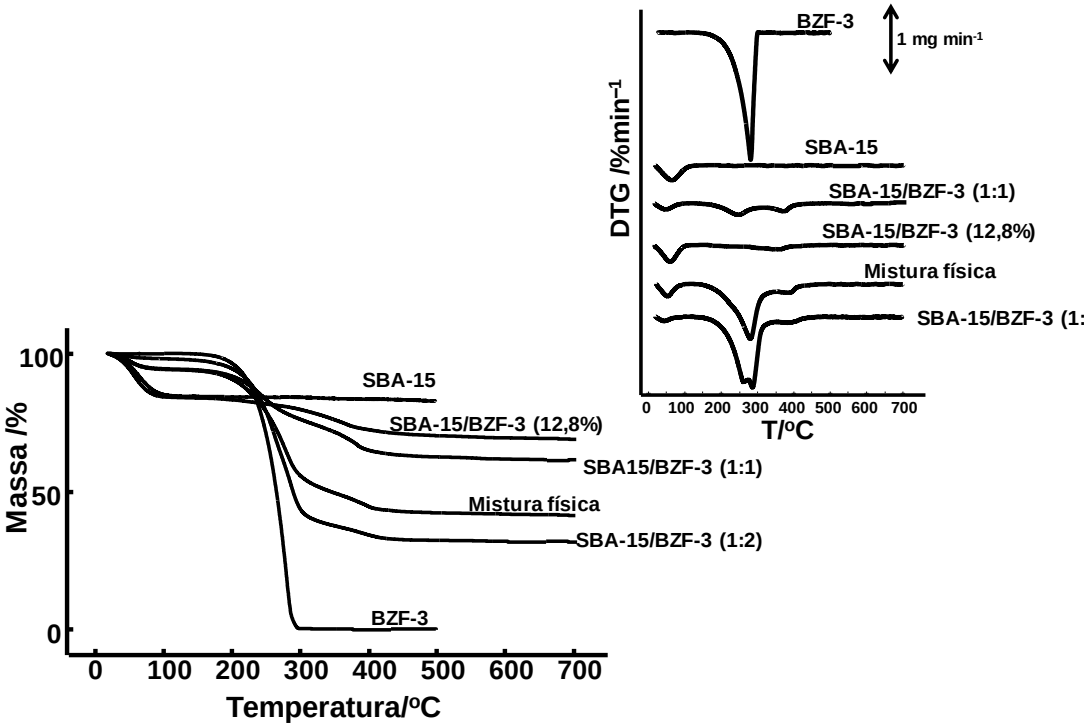


Figura 5.4 Sobreposição das curvas TG/DTG obtidas a 10 ºC min^{-1} e sob atmosfera dinâmica de ar das amostras de: SBA-15, BZF-3, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (1:2), SBA-15/BZF-3 (12,8%) e Mistura física (1:1).

Para a mistura física entre BZF-3 e SBA-15 na proporção 1:1, constataram-se três eventos de perda de massa. O primeiro evento foi idêntico ao da amostra SBA-15/BZF-3 (1:1). O segundo evento ocorreu de forma antecipada quando comparado à amostra SBA-15/BZF-3 (1:1), além disso, observou-se uma perda de massa maior para a amostra da mistura física (Δm = 43,6%). O terceiro evento ocorreu entre 316 e 503ºC e uma perda de massa de cerca de 9%. Isto significa que a perda de massa da amostra da mistura física foi aproximadamente 3,8% menor, comparado ao material encapsulado, demonstrando que o processo de encapsulação é mais eficiente do que a simples mistura do filtro solar com a sílica. O valor total de BZF-3 correspondeu à cerca 52,6%. O teor de produto final na temperatura de 900ºC foi de 41,9% que corresponde a percentagem total de SBA-15. Este resultado indica que essa mistura física foi preparada na proporção m/m de 0,80 de SBA-15 para 1 de benzofenona-3.

A **Figura 5.5** ilustra a sobreposição das curvas TG/DTG das amostras de SBA-15, AVO, SBA-15/AVO (1:1), SBA-15/AVO (6%) e mistura física entre a SBA-15/AVO. As curvas TG/DTG da amostra de avobenzona evidenciaram dois eventos de perda de massa. O primeiro evento ocorreu entre 218 e 405ºC, com T_{pico} = 351°C e Δm = 97%. O segundo evento ocorreu entre 420 e 512ºC (T_{pico} = 465°C) e com Δm de 1,4%, totalizando uma perda de massa de cerca de 98%.

Para a amostra encapsulada/incorporada à matriz de sílica na proporção 1:1 e da mistura física, as curvas TG/DTG apresentaram quatro eventos de perda de massa, diferentemente do que foi constatado para a amostra de avobenzona. O primeiro evento ocorreu entre 21 e 95°C (T_{pico} = 51°C) e está relacionado com a perda de água fissiosorvida no material mesoporoso (Δm = 3,6%). O segundo evento ocorreu entre 170 e 373 °C (T_{pico} = 337°C), com perda de massa de cerca de 40,6% para amostra encapsulada na SBA-15 e 170 e 370°C, com perda de massa de cerca de 52% para a mistura física. Este evento corresponde à decomposição térmica da avobenzona que se encontra fora dos mesoporos da SBA-15. O terceiro evento ocorreu sequencialmente ao segundo evento entre 372 e 426°C e com perda de massa de aproximadamente 6% (T_{pico} = 402°C) para amostra encapsulada e para a mistura física a perda de massa foi de cerca 4,4% (T_{pico} = 409°C). Este evento corresponde à decomposição térmica da avobenzona que está no interior dos poros da SBA-15. O quarto, e último, evento ocorreram entre 467 e 580°C (T_{pico} = 526°C), Δm de 3,2% para amostra da avobenzona encapsulada na SBA-15 e para amostra da mistura física este evento não ocorreu. Este evento corresponde ao último evento de decomposição térmica da avobenzona dentro dos mesoporos da SBA-15. O valor total de AVO correspondeu à cerca 49,8% para amostra SBA-15/AVO (1:1) e 56,4% para a mistura física. O teor de produto final de SBA-15/AVO (1:1) e mistura física na temperatura de 700ºC foram, respectivamente, de 46,6% e 40% que correspondem à percentagem total de SBA-15. Este resultado indica que o material encapsulado foi preparado na proporção m/m de 1 de SBA-15 para 1 de avobenzona. Já para a mistura física foi preparado na proporção m/m de 1 de SBA-15 para 1,41 de avobenzona.

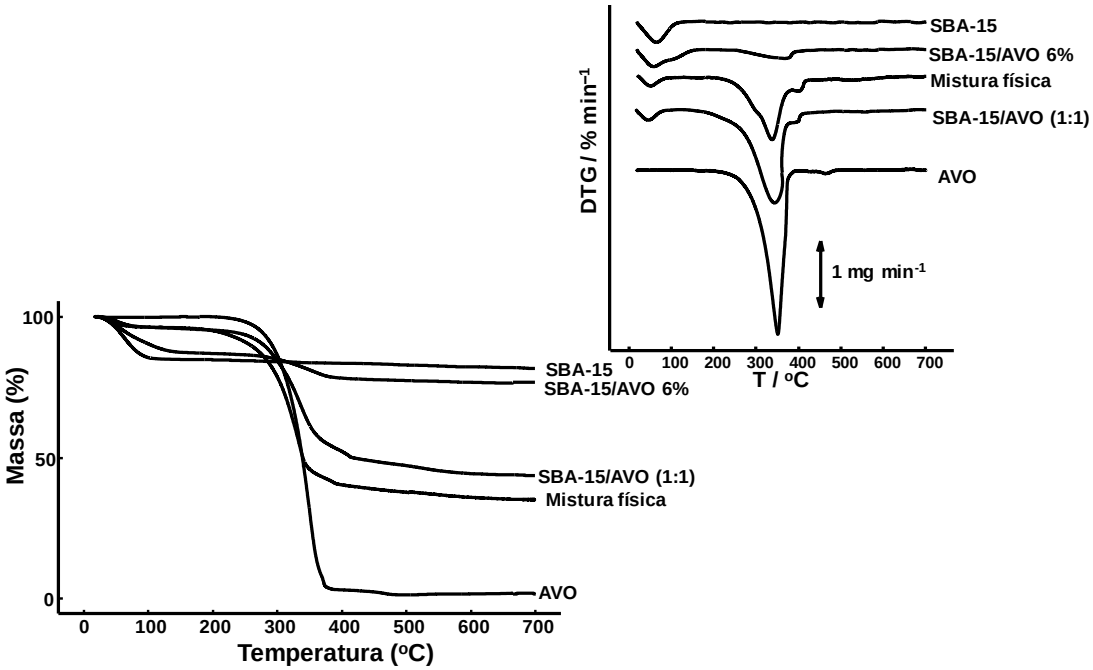


Figura 5.5 Sobreposição das curvas TG/DTG obtidas a 10 °C min^{-1} e sob atmosfera dinâmica de ar das amostras de: SBA-15, AVO, SBA-15/ AVO (1:1), SBA-15/ AVO (6%) e Mistura física.

De acordo com os resultados obtidos, decidiu-se encapsular aproximadamente 6% de AVO no material mesoporoso. As curvas TG/DTG desta amostra evidenciaram dois eventos de perda de massa. O primeiro evento ocorreu entre 23 e 156°C (T_{pico} = 59°C) com Δm de cerca de 12,8%. Esta perda de massa é maior do que aquela observada para a amostra encapsulada com AVO na proporção 1:1. O segundo evento ocorreu entre 260 e 390 °C (T_{pico} = 362°C) e Δm = 7,8%. Este evento ocorreu de forma antecipada em comparação à amostra encapsulada na proporção 1:1. Avaliando-se comparativamente as três amostras (SBA-15/AVO 1:1, SBA-15/AVO mistura física e SBA-15/AVO 6%) constatou-se que o terceiro evento correspondente à eliminação da avobenzona presente nos mesoporos da sílica, ocorreu de forma antecipada para as amostras da mistura física e a encapsulada a 6%. Além disso, observou-se que a perda de massa da amostra mistura física foi 2,4% menor do que aquela evidenciada na amostra encapsulada na proporção 1:1. Desta forma pode-se concluir que o processo de

encapsulação na proporção 1:1 foi mais eficiente do que para as outras amostras avaliadas.

Para a amostra de MCO (**Figura 5.6**) ocorreram dois eventos de perda de massa. O primeiro evento entre 149 e 200 ºC (T_{pico} DTG = 176 ºC), com Δm de 3,7%. O segundo evento ocorreu sequencialmente ao primeiro entre 203 e 338 ºC (T_{pico} DTG = 293 ºC) e perda de massa de 95,5%, totalizando uma perda de massa de 98,5%. Este evento está relacionado à volatilização do material.

Entretanto, para as amostras mistura física (MCO e SBA-15) e SBA-15/MCO (1:1) constatou-se a presença de quatro eventos de perda de massa. O primeiro evento ocorreu entre 20 e 64 ºC com T_{pico}DTG = 42 ºC e Δm = 2,0% para amostra de SBA-15/MCO, enquanto que para mistura física observou-se T_{pico} DTG = 50 ºC (Δm = 3,7%). O segundo evento para ambas amostras, ocorreram entre 165 e 265 ºC. Contudo, constatou-se que a perda de massa para mistura física foi 4,3% maior de que o material encapsulado/incorporado (Δm = 8,5%). O terceiro evento, ocorreu parcialmente sobreposto ao segundo entre 252 e 333 ºC (T_{onset} DTG = 285 ºC; T_{pico}DTG = 296 ºC) com Δm = 32% para SBA-15/MCO (1:1), e para mistura física com T_{onset} DTG = 282 ºC e T_{pico} DTG = 292 ºC (Δm = 22,8%). Este evento correspondeu ao processo de volatilização do MCO presente na superfície do material mesoporoso. O último evento iniciou-se após o terceiro evento com (T_{onset} DTG = 332 ºC) (Δm = 7,8%) for SBA-15/MCO (1:1). A mistura física apresentou uma perda de massa de 7,0% (T_{onset} DTG = 320 ºC).

Com relação à amostra SBA-15/MCO (2:1), observaram-se três eventos de perda de massa. O primeiro evento correspondeu a perda de água presente no material mesoporoso, enquanto o segundo evento correspondeu ao segundo e terceiro eventos das amostras SBA-15/MCO (1:1) e mistura física (T_{onset} DTG = 247 ºC). O terceiro e último evento está associado ao processo de decomposição térmica e carbonização do MCO, presente no interior dos mesoporos da SBA-15 com T_{onset} DTG = 331 ºC e T_{peak} DTG = 383 ºC (Δm = 3.8%).

O teor de produto final na temperatura de 700 ºC foi de 49,5% para SBA-15/MCO (1:1) e 62,7% para amostra de SBA-15/MCO (2:1), que corresponde a

percentagem total de SBA-15. O valor total de MCO correspondeu a cerca 48,5% para a amostra de SBA-15/MCO (1:1) e cerca de 33,7% para a amostra SBA-15/MCO (2:1). Este resultado indica que o material SBA-15/MCO (1:1) foi preparado na proporção m/m de 1 de SBA-15 para 1 de metoxicinamato de octila, enquanto que para SBA-15/MCO (2:1) a proporção m/m foi de 1,9 de SBA-15 para 1 de metoxicinamato de octila. Para a mistura física, o valor total de MCO foi de 50,3% e a porcentagem total de SBA-15 foi de 46,0%. Este resultado indica que o material foi preparado na proporção m/m de 0,9:1 SBA-15/MCO.

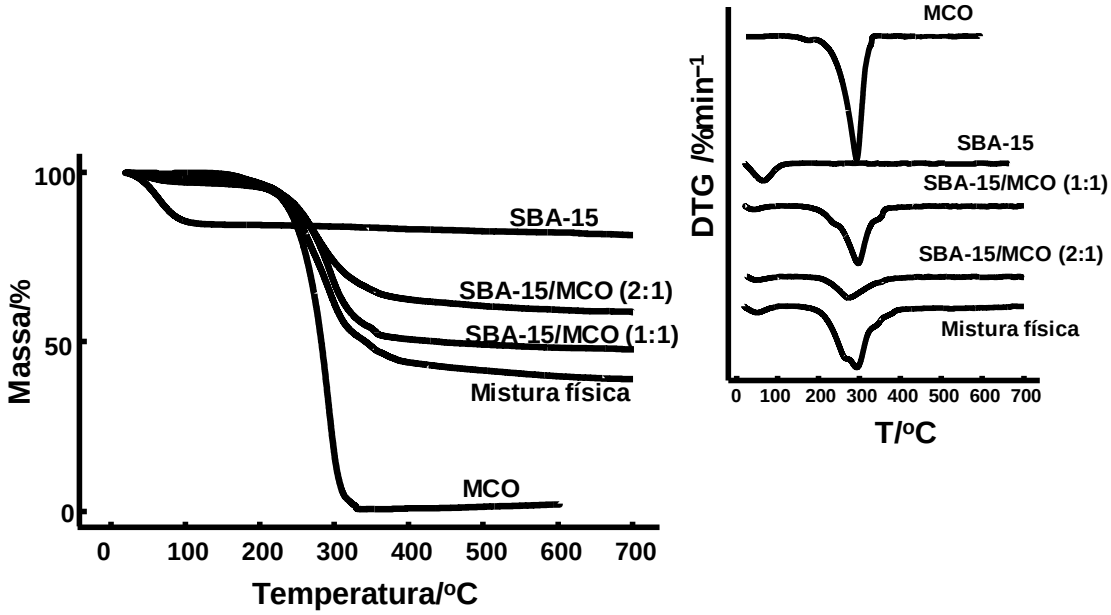


Figura 5.6. Sobreposição das curvas TG/DTG obtidas a 10 ºC min^{-1} e sob atmosfera dinâmica de ar das amostras de: SBA-15, MCO, SBA-15/ MCO (1:1), SBA-15/ MCO (2:1) e Mistura física.

Avaliando-se comparativamente as curvas TG/DTG de todas as amostras (**Figura 5.6**) constatou-se que a temperatura T_{onset} e T_{pico} DTG do último evento, deslocou-se para temperaturas mais altas, quando comparado a amostra do filtro isolado. Ademais, as amostras encapsuladas/icorporadas e mistura física apresentaram perda de massa na região de temperatura onde as amostras SBA-15 e MCO não mostraram nenhum evento térmico (Δm 333-550ºC). Estes

resultados indicam que a SBA-15 proporcionou ação protetora a este filtro solar (DANELUTI *et al.*, 2017).

5.4 Análise Elementar

A presença da BZF-3, AVO, MCO nos materiais obtidos do processo de encapsulação/incorporação na sílica SBA-15 foi observada a partir do resultado de análise elementar (**Tabela 5.5**). Sabe-se que a amostra de SBA-15 pura não apresenta material orgânico, mas mesmo assim fez-se a determinação de CHN neste material. Essa medida foi executada para essa amostra com o objetivo de avaliar a eficiência do processo de calcinação. O baixo teor de C encontrado confirma que no processo de calcinação ocorreu à eliminação total do tensoativo utilizado na síntese do material mesoporoso.

Para as amostras de BZF-3, AVO e MCO observou-se que os teores de carbono encontrados foram, respectivamente, 73,5%, 77,5% e 74,9%. Estes valores encontrados são muito similares aos valores calculados estequiometricamente de 73,7%, 77,4% e 74,8%, respectivamente. Isso significa que as amostras desses compostos apresentam alto teor de pureza.

Os resultados de análise elementar para as amostras SBA-15/BZF-3 (1:1) e SBA-15/BZF-3 (1:2) foram de 22% e 47,2% de carbono, que correspondem, respectivamente, a 30,0% e 51,0% (massa/massa) de benzofenona-3 na matriz de sílica. Associando os resultados de TG/DTG e análise elementar, observou-se que o somatório de perda massa para amostra encapsulada/incorporada na proporção 1:1 (20,4% + 12,8%) ocorreu no intervalo de temperatura de 150 a 550ºC, atribuído à eliminação de benzofenona, é cerca de 3,0% a mais do que o teor encontrado por análise elementar a partir do teor de C encontrado. Em contrapartida a amostra encapsulada na proporção 1:2, apresentou uma perda de massa que totalizou o valor de 66,3%, correspondente à eliminação de benzofenona-3. Esse valor é muito similar ao teor encontrado por análise elementar, que foi de 64,0%. A amostra SBA-15/BZF-3 (12,8%) apresentou um teor de C de aproximadamente 10,6%, que corresponde a 14,5% (massa/massa)

de BZF-3 na matriz de sílica, próximo ao valor encontrado a partir das curvas TG/DTG que foi de 12,8%.

Tabela 5.2 Resultados de análise elementar e TG/DTG das amostras de SBA-15, filtros solares isolados, encapsulados/incorporados na SBA-15 e misturas físicas.

Amostras	%C	%H	%N	%filtros na SBA-15 por AE	%filtros na SBA-15 por TG/DTG
SBA-15	0,05	2,7	0,1	-	-
BZF-3	73,5	5,0	-	-	-
SBA-15/BZF-3 (1:2)	47,2	3,7	-	64,0	66,3
SBA-15/BZF-3 (1:1)*	22,0	2,3	-	30,0	33,2
SBA-15/BZF-3 (12,8%)	10,6	2,1	-	14,5	12,8
Mistura física SBA-15/BZF-3 (1:1)	38,2	3,4	-	52,0	52,6
MCO	74,9	9,5	0,06	-	-
SBA-15/MCO (1:1)	36,0	4,4	0,6	48,0	48,5
SBA-15/MCO (2:1)	25,0	4,0	-	33,6	33,7
Mistura física SBA-15/MCO (1:1)	37,7	5,3	-	50,6	50,3
AVO	77,4	7,2	0,2	-	-
SBA-15/AVO (1:1)	38,0	4,3	-	49,0	49,5
SBA-15/AVO (6%)**	9,0	1,4	1,0	11,6	7,8
Mistura física SBA-15/AVO (1:1)	41,7	4,4	-	54,0	56,4

* SBA-15/BZF-3 (1:1) = preparado na proporção 2 de SBA-15 para 1 de BZF-3
**SBA-15/AVO (6%) = preparado na concentração de 7,8% de AVO

No caso da amostra de avobenzona encapsulada na SBA-15, os resultados da %C por análise elementar foram, respectivamente, 38,0% (SBA-15/AVO 1:1) e 9,0% (SBA-15/AVO a 6%), que correspondem, respectivamente, a 49,0% e 11,6% (massa/massa) de avobenzona na matriz da SBA-15. Associando os resultados de TG/DTG e análise elementar, observou-se que o somatório de perda massa para a amostra encapsulada/incorporada na proporção 1:1 foi de 48,5% (40,0% + 6,0% +2,5%), e ocorreu no intervalo de temperatura de 170 e 580 ºC (atribuído à eliminação de avobenzona). Esse valor é similar ao teor encontrado por análise elementar a partir do teor de C. Já para

amostra encapsulada a 6%, constatou-se que o valor encontrado por análise elementar foi de aproximadamente 3,8% a mais do que os resultados por TG/DTG (Δ = 7,8%).

Para as amostras de MCO encapsuladas/incorporadas na SBA-15, os resultados de análise elementar (%C) foram 36,0% para amostra SBA-15/MCO (1:1) e 25,0% para amostra de SBA-15/MCO (2:1), que correspondem, respectivamente a 48,0% e 33,6% (massa/massa) de MCO na matriz da SBA-15. Comparando os resultados de TG/DTG e análise elementar, observou que o somatório de perda massa para a amostra encapsulada na proporção 1:1 foi de 46,0%, enquanto que para a amostra SBA-15/MCO (2:1) foi de 33,0%. Isto significa dizer que para a amostra encapsulada na proporção 1:1 foi encontrado um valor de cerca de 2,0% a menos do que aquele encontrado por análise elementar a partir do teor de C. Enquanto que para a amostra SBA-15/MCO (2:1) os valores de análise elementar e TG/DTG foram similares.

Em relação às amostras das misturas físicas de SBA-15/BZF-3, SBA-15/MCO e SBA-15/AVO, a partir da %C (análise elementar) o teor de filtro calculado na mistura foi 52,0, 50,6 e 54,0% respectivamente. Estes valores foram muito próximos aos valores encontrados para as amostras encapsuladas/incorporadas na SBA-15 na mesma proporção, exceto para a amostra SBA-15/BZF-3 (1:1). Além disso, estes resultados corroboraram em relação aos valores encontrados a partir das curvas TG/DTG.

FREITAS e colaboradores (2015) utilizaram a técnica de análise elementar para quantificar a presença de metotrexato encapsulados nas sílicas mesoporosas do tipo SBA-15, SBA-16 e MCM-41. Neste trabalho, a técnica de análise elementar foi essencial para quantificar a presença dos filtros solares na matriz de SBA-15, o que permitiu corroborar aos resultados de TG/DTG.

5.5 Medidas de adsorção/dessorção de N_2

A partir da Isoterma de adsorção/dessorção de N_2 da amostra de sílica do tipo SBA-15 (**Figura 5.7**) foi obtido o valor de S_{BET} calculada pelo modelo de Branauner-Emmet-Teller (BET), e os valores de volume (*V*) de poro e a distribuição do tamanho de poro, pelo modelo de Barrett-Loyner-Halenda (BJH), os quais estão listados na **Tabela 5.3**. Essa isoterma apresentou uma histerese localizada entre 0,6 e 0,8 de pressão relativa (p/p_0), indicando uma estreita distribuição de tamanho de poro e uma boa qualidade deste material mesoporoso (KRUK *et al.*, 2000). Os resultados corroboraram os dados provenientes da literatura para amostras de sílica mesoporosa do tipo SBA-15 com estrutura altamente ordenada e o perfil de histerese do tipo IV para o material (KRUK *et al.*, 2000; MATOS *et al.*, 2001; ZHAO *et al.*, 1998a, 1998b).

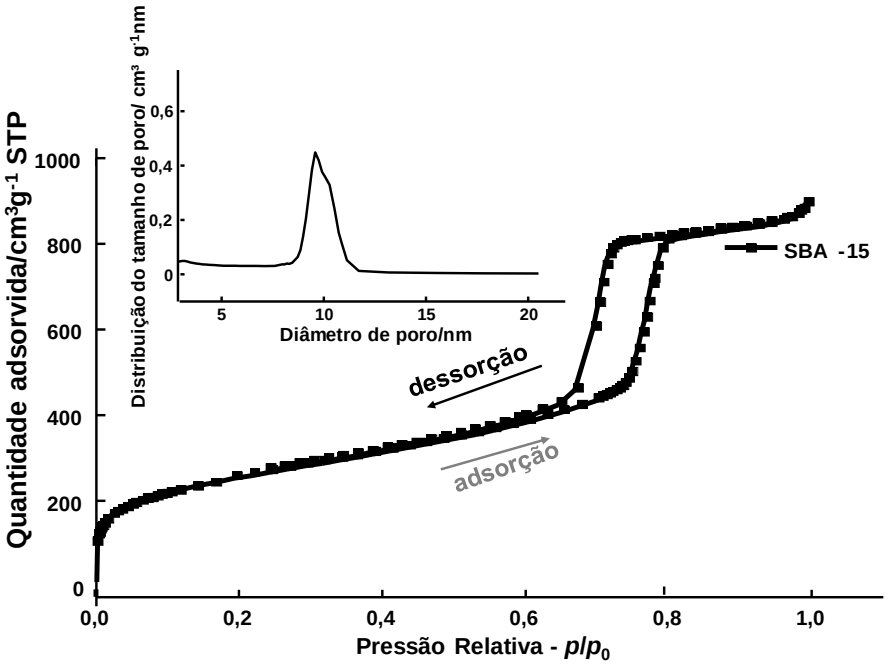


Figura 5.7 Isoterma de adsorção/dessorção de N_2 para a amostra de SBA-15.

As isotermas de adsorção/dessorção obtidas para as amostras de SBA-15 encapsuladas/incorporadas com os filtros solares mostraram perfil diferente daquele obtido para a amostra de SBA-15 pura. Houve uma redução na quantidade de N_2 adsorvido sobre diferentes valores de pressão relativa (p/p_0),

como consequência ocorreu uma diminuição na área superficial (S_{BET}), volume de poros (V_p) e tamanho de poro dos materiais encapsulados/incorporados (**Figuras 5.8, 5.9 e 5.10**). Constatou-se que a redução nos valores desses parâmetros foi tanto maior quanto maior a proporção dos filtros solares presentes no material mesoporoso (**Tabela 5.3**). Desta forma, observou-se que para a amostra de SBA-15/MCO (2:1) a redução no valor da S_{BET} foi de 67,4% e do volume de poro de 54%, enquanto que para a amostra de SBA-15/MCO (1:1) a redução na área BET e volume de poro foram de 95 e 88%, respectivamente (**Figura 5.8**) (AMBROGI *et al.*, 2013b). O mesmo fato foi observado, quando se avaliou comparativamente as isotermas da amostra de SBA-15 pura com aquelas das amostras de SBA-15/AVO 6% e SBA-15/AVO (1:1), na qual a área S_{BET} foi reduzida de 912 para 420 e 159 $m^2 g^{-1}$ e o V_p *de 1,37* para 0,73 e 0,35 $cm^3 g^{-1}$, respectivamente (**Figura 5.9**).

Em relação às amostras encapsuladas/incorporadas com benzofenona-3 na matriz mesoporosa (**Figura 5.10**), observaram-se que para as amostras SBA-15/BZF-3 (1:1) e SBA-15/BZF-3 (12,8%) o valor da área superficial diminuiu para 60 e 375 $m^2 g^{-1}$, respectivamente, em comparação ao material mesoporoso puro (913 $m^2 g^{-1}$). O volume de poro destes materiais também sofreu redução e os dados estão listados na **Tabela 5.3**.

Tabela 5.3 Parâmetros estruturais obtidos para sílica do tipo SBA-15 e para as amostras de filtros solares incorporados/encapsulados no material mesoporoso.

Amostras	∅médio dos poros (nm)	S_{BET} ($m^2 g^{-1}$)	V ($cm^3 g^{-1}$)	Redução S_{BET} (%)	Redução V (%)
SBA-15	10,2	913	1,37	-	-
SBA-15/MCO (2:1)	8,0	198	0,42	67,4	54,1
SBA-15/MCO (1:1)	6,8	24	0,08	94,7	88,3
SBA-15/AVO 1:1	7,0	159	0,35	65,1	49,0
SBA-15/AVO 6%*	8,0	364	0,72	57,5	44,3
SBA-15/BZF-3 (1:2)	6,3	8,6	0,07	98,5	92,3
SBA-15/BZF-3 (1:1)**	8,0	60	0,20	87,0	71,0
SBA-15/BZF-3 12,8%	10,0	375	0,73	53,3	39,5

* **SBA-15/BZF-3 (1:1)** = preparado na proporção 2 de SBA15 para 1 de BZF-3

** **SBA-15/AVO (6%)** = preparado na concentração 7,8% de AVO

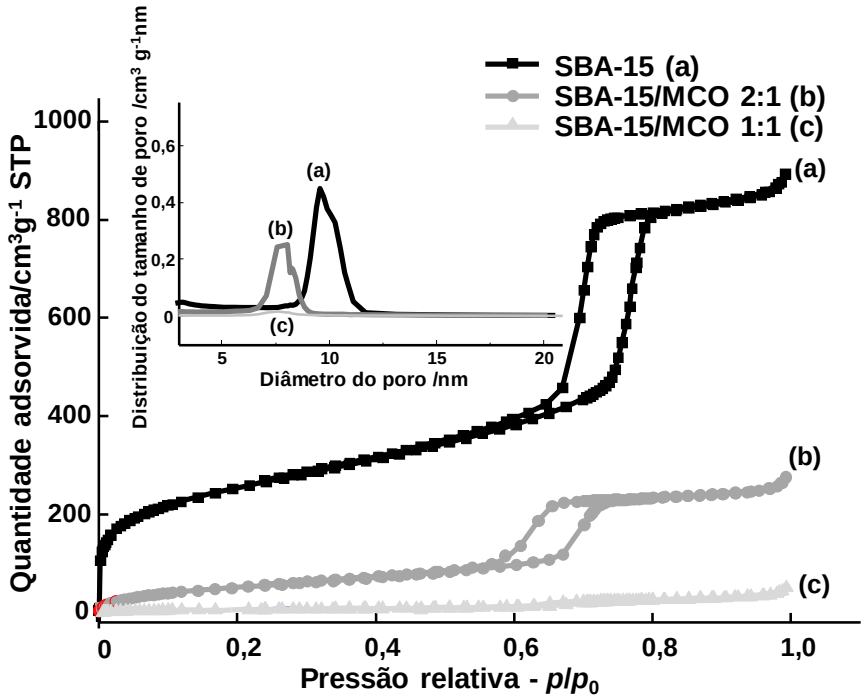


Figura 5.8 Isoterma de adsorção/dessorção de N_2 e respectiva curva de distribuição do tamanho de poro das amostras de: SBA-15 (a), SBA-15/MCO-2:1 (b) e SBA-15/MCO-1:1 (c).

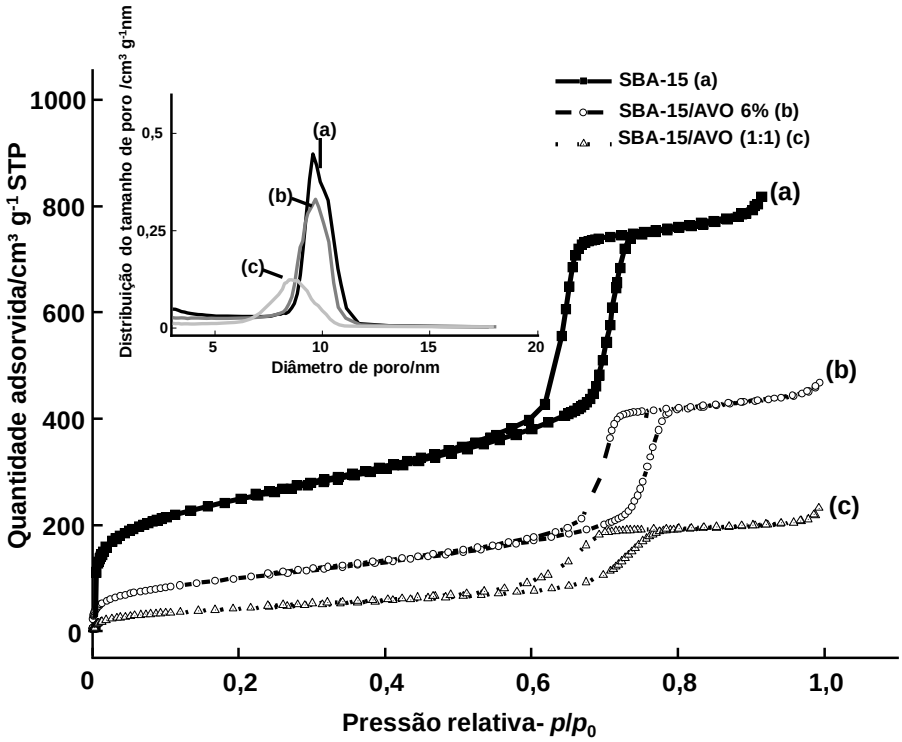


Figura 5.9 Isoterma de adsorção/dessorção de N_2 e curva de distribuição de tamanho de poro das amostras de: SBA-15 (a), SBA-15/AVO-6% (b), SBA-15/AVO- 1:1 (c).

Em contrapartida à amostra de benzofenona-3 encapsulada/incorporada na SBA-15 na proporção 2:1, observou-se uma expressiva diminuição, tanto para a área superficial (8,6 m^2g^{-1}), como para o volume de poro (0,07 cm^3g^{-1}), em comparação aos outros materiais e a SBA-15. Este resultado pode ser atribuído ao excesso de material (BZF-3) adsorvido à superfície da SBA-15 e consequentemente ao preenchimento dos poros, impedindo a passagem de N_2. Ambrogi e colaboradores (2013b) encapsularam a benzofenona-3 na sílica mesoporosa do tipo MCM-41 (2:1) e obtiveram redução menos expressiva, ou seja, cerca de 50% na área superficial e no volume de poro em relação à MCM-41 pura. Pode-se inferir que a SBA-15 apresenta afinidade maior em relação a este composto, visto que a redução da área superficial e volume de poro foram de cerca de 90%, comparado a SBA-15 pura. Essa maior afinidade está relacionada ao maior volume e/ou diâmetro de poros da SBA-15, comparada com a do MCM-41.

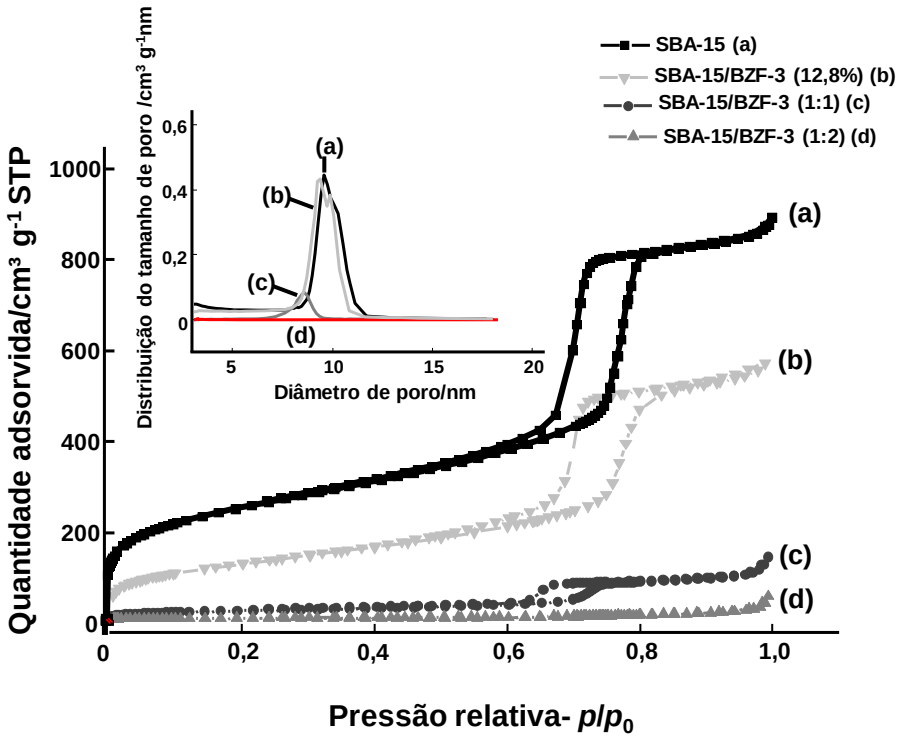


Figura 5.10 Isoterma de adsorção/dessorção de N_2 e curva de distribuição de tamanho de poro das amostras de: SBA-15 (a), SBA-15/BZF-3- 12,8% (b), SBA-15/BZF-3 -1:1 (c) e SBA-15/BZF-3 – 1:2 (d).

Em suma, pode-se observar que as isotermas de adsorção/dessorção de N_2 dos filtros solares assoicados à sílica SBA-15, apresentaram redução nos valores de S_{BET} e V_p em relação àquela da SBA-15 pura. Isso permite concluir que ocorreu a encapsulação/incorporação dos filtros solares à matriz de sílica (DANELUTI et al., 2017; MORITZ; LANIECKI, 2012).

5.6 Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS)

A **Figura 5.11** ilustra o difratograma de raios X obtido por espalhamento a baixo ângulo, da amostra de SBA-15 pura. Constatou-se o aparecimento de 5 picos **(hkl)** bem resolvidos, indexados nas posições 100, 110, 200, 210 e 300, típicos de materiais com ordenamento hexagonal.

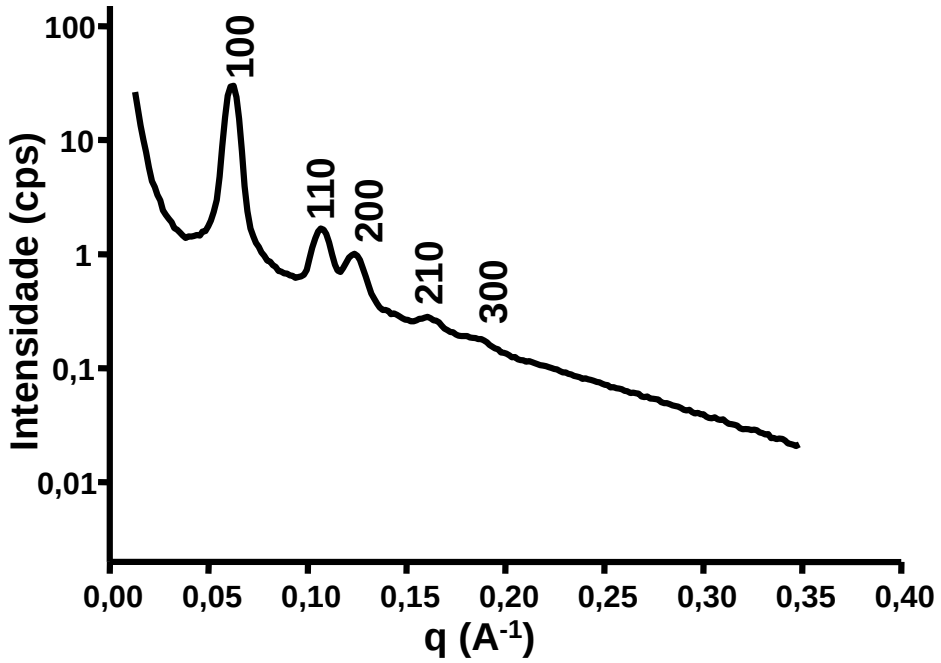


Figura 5.11. Difratograma de raios X obtido por SAXS para a amostra de SBA-15 pura

A **Tabela 5.4** lista os parâmetros calculados como espessura da parede de poros (**t**), raio dos poros, diâmetros dos poros (obtido por meio da isoterma de adsorção de N_2), assim como os parâmetros de rede (**a**), que compreende a distância entre dois centros e a distância interplanar (**d**). Esses parâmetros podem ser mais melhores compreendidos, observando a **Figura 5.12**. O valor referente ao diâmetro do poro foi igual a 10,2 nm, obtido por meio da isoterma de adsorção de N_2. A partir destes resultados pode-se inferir que o material apresenta um ordenamento hexagonal. Em todos os picos, a espessura de parede (**t**) apresentou um valor muito similar de aproximadamente 1,5 nm.

Tabela 5.4 Parâmetros obtidos por SAXS e espessura da parede de poros calculada para amostra de SBA-15 pura.

hkl	q/Å	d /nm	a /nm	t /nm
100	0,06	10,1	11,7	1,5
110	0,10	5,9	11,7	1,5
200	0,12	5,0	11,5	1,3
210	0,16	3,9	11,7	1,5
300	0,18	3,3	11,4	1,2

Legenda:hkl = picos; **q/Å =** vetor de espalhamento de luz em angstrom**; d/nm=** distância interplanar em nanômetros; **a =** parâmetros de rede em nanômetros; **t** = espessura de parede; em nanômetros.

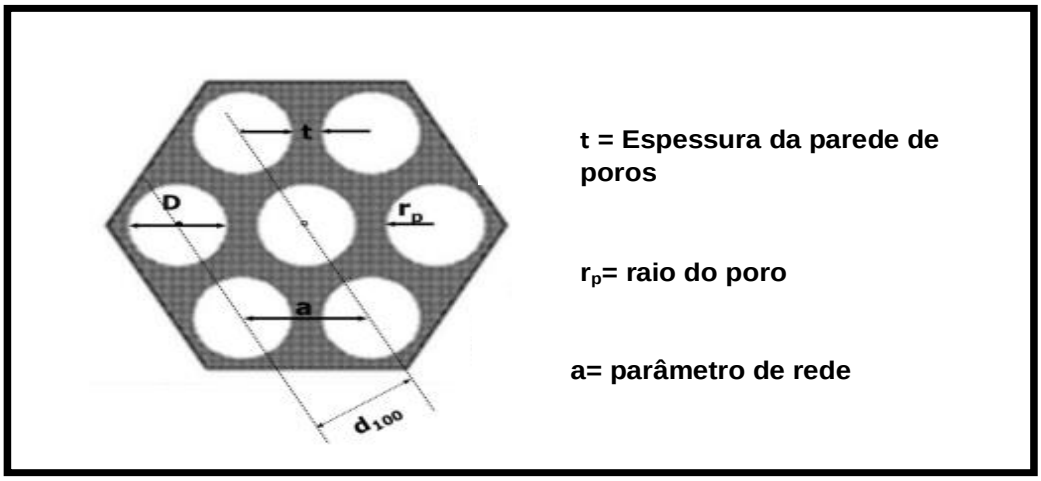


Figura 5.12 Representação dos poros de um material que apresenta ordenamento hexagonal. **Fonte:** ÁVILA, 2015.

Os parâmetros calculados tiveram como base as **Equações 5.1 a 5.6**.

$$d = 2\pi/q \qquad (5.1)$$

$$a_{100} = 2d/\sqrt{3} \qquad (5.2)$$

$$a_{110} = 2d \qquad (5.3)$$

$$a_{200} = 4d/\sqrt{3} \qquad (5.4)$$

$$a_{210} = 3d \qquad (5.5)$$

$$a_{300} = 6d//\sqrt{3} \qquad (5.6)$$

As **Figuras 5.13** ilustram a sobreposição dos difratogramas de raios X obtidos por espalhamento a baixo ângulo da amostra de SBA-15 pura, dos filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15, das misturas físicas (SBA-15/filtros solares) e dos filtros isolados. Os parâmetros obtidos por meio destes ensaios estão listados na **Tabela 5.5.**

Os difratogramas dos filtros encapsulados/incorporados na SBA-15 e as suas respectivas misturas físicas não apresentaram diferenças significativas em relação ao difratograma da SBA-15 pura, constatando que os filtros não provocaram alteração na estrutura do material mesoporoso (SBA-15). Além disso, todos os materiais apresentaram cinco picos bem definidos indexados nas posições 100, 110, 200, 210 e 300, mostrando que os mesmos apresentaram um arranjo estrutural bem definido, característico de materiais de estrutura hexagonal. Os difratogramas de SAXS, assim como os parâmetros obtidos por meio destes, são idênticos em comparação com os resultados da SBA-15 pura e para os materiais encapsulados e/ou incorporados e misturas físicas. Estes resultados estão em consonância aos reportados por KIWILSZA *e* colaboradores *(*2013), no qual os autores estudaram o produto da encapsulação da lancidipina na SBA-15 e a mistura física entre os dois. Foi concluído que o fármaco em questão não alterou as propriedades estruturais da SBA-15, porém houve redução na intensidade dos picos em relação ao material de partida.

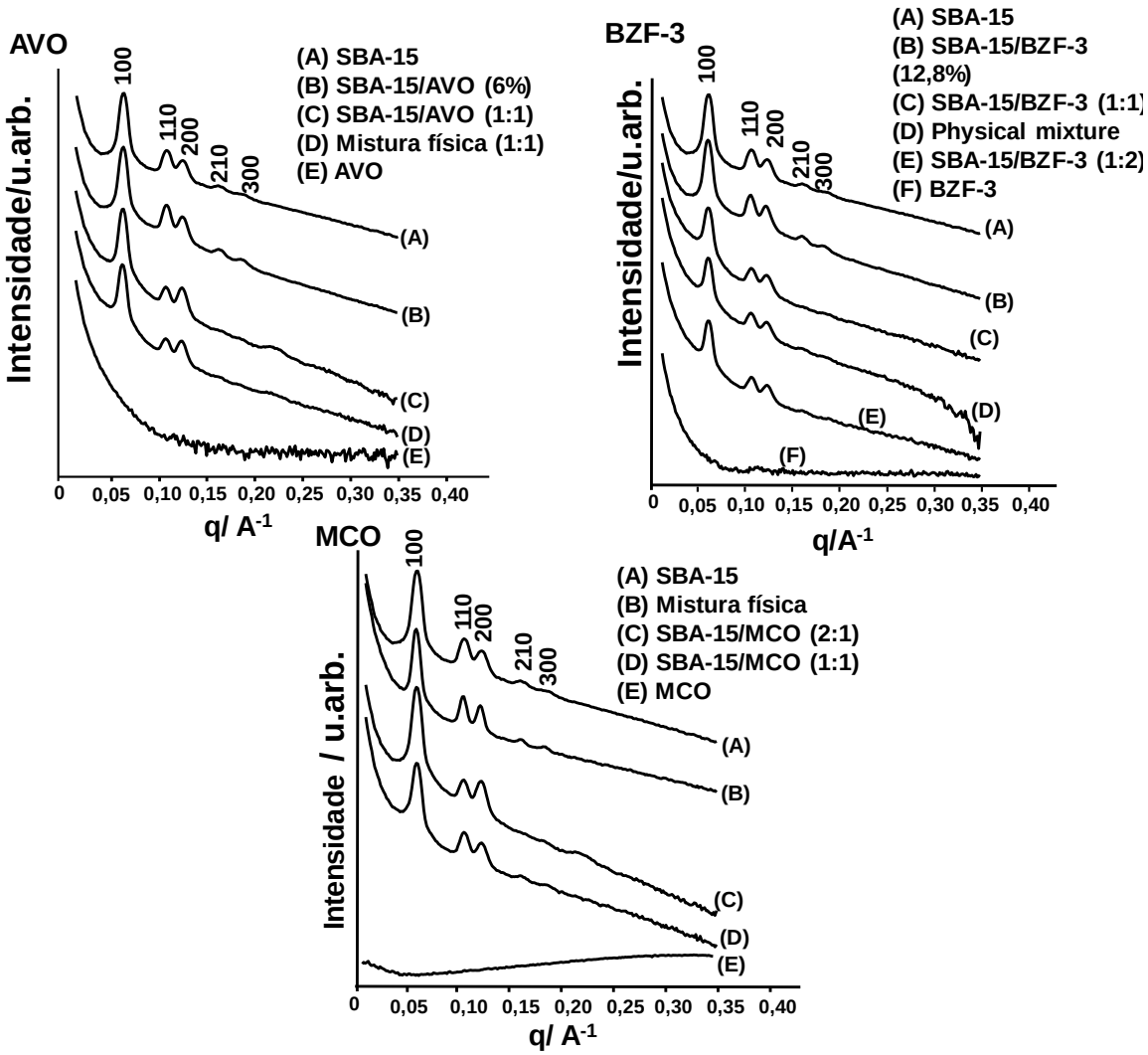


Figura 5.13 Difratogramas de raios X obtidos por SAXS das amostras de SBA-15 pura, mistura física filtros/SBA-15, filtros encapsulados/incorporados na SBA-15 e filtros isolados.

Tabela 5.5 Parâmetros obtidos por SAXS e espessura da parede de poros calculada das amostras: SBA-15 pura, mistura física filtros/SBA-15 e filtros encapsuladas/incorporadas na SBA-15.

Amostras	q_{100}/Å	d_{100}/nm	a_{100}/nm	t_{100}/nm
SBA-15	0,06	10,1	11,7	1,5
SBA-15/MCO (2:1)	0,06	10,1	11,7	3,7
SBA-15/MCO (1:1)	0,06	10,1	11,7	4,9
Mistura física-SBA-15/MCO (1:1)	0,06	10,1	11,7	-
SBA-15/AVO (1:1)	0,06	10,1	11,7	4,7
SBA-15/AVO 6%**	0,06	10,1	11,7	3,7
Mistura física-SBA-15/AVO (1:1)	0,06	10,1	11,7	-
SBA-15/BZF-3 (1:2)	0,06	10,1	11,7	5,4
SBA-15/BZF-3 (1:1)*	0,06	10,1	11,7	3,7
SBA-15/BZF-3 12,8%	0,06	10,1	11,7	1,7
Mistura física-SBA-15/BZF-3 (1:1)	0,06	10,1	11,7	-

Legenda: q/Å = vetor de espalhamento de luz em angstrom**; d/nm=** distância interplanar em nanômetros;
a = parâmetros de rede em nanômetros; **t** = espessura de parede; em nanômetros.
***SBA-15/BZF-3 (1:1)** = preparado na proporção 2 de SBA15 para 1 de BZF-3;
****SBA-15/AVO (6%)** = preparado na concentração de 7,8%.

Obviamente que, para todas as amostras de filtros isolados, não se observou a presença destes picos indexados, uma vez que os materiais não estavam associados à matriz mesoporosa da SBA-15.

No que diz respeito às amostras encapsuladas/incorporadas na SBA-15 e misturas físicas, observou-se pequena variação na intensidade dos picos 100, 110 e 200, além de pequeno aumento na espessura da parede do poro. Essas variações podem estar associadas a uma menor ordenação estrutural do material encapsulado/incorporado com os filtros, uma vez que a intensidade dos picos de difração sofreram variações. Por outro lado, as amostras SBA-15/AVO a 6%, SBA-15/BZF-3 a 12,8% e SBA-15/MCO (2:1) não apresentaram variação na intensidade dos picos.

Esses dados permitem concluir que a encapsulação dos filtros à SBA-15 pode causar mudanças nos parâmetros estruturais em comparação ao material de partida, entretanto, tais variações não são suficientes para que o material modifique sua estrutura mesoporosa hexagonal (FREITAS *et al.*, 2015; GUO *et al.*, 2013; KIWILSZA *et al.*, 2013).

5.7 Espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR)

A **Figura 5.14** ilustra a sobreposição dos espectros de FTIR das amostras da sílica mesoporosa SBA-15, BZF-3, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (12,8%), Mistura física 1:1 (SBA-15/BZF-3) e SBA-15/BZF-3 (1:2). Para todas as amostras reportadas observou-se uma banda de estiramento do grupamento νOH em torno de 3450 cm^{-1}. Entretanto, para os materiais encapsulados e a mistura física constatou-se uma intensificação desta banda, provavelmente devido à formação de pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxila da BZF-3 e água fisiossorvida na SBA-15. O espectro FTIR da sílica apresentou uma banda referente a grupos hidroxila em torno de 1634 cm^{-1} e ainda bandas com alta intensidade, típicas deste material, em 1000 e 1200 cm^{-1}, correspondentes ao estiramento assimétrico do grupamento Si–O–Si. Além disso, verificou-se uma banda correspondente à vibração de grupamentos químicos Si-OH em 950 cm^{-1} (grupos silanóis e hidroxilas terminais) e na região de 800 cm^{-1}, no espectro FTIR da sílica, uma banda originada pela vibração do estiramento simétrico da ligação Si-O-Si. Outra banda característica deste tipo de material foi evidenciada em aproximadamente 470 cm^{-1}, que corresponde à ponte de ligação observada no grupo químico O-Si-O (LÓPES *et al.*, 2006; SEVIMLI, YILMAZ, 2012).

Para a amostra de BZF-3 observou-se uma banda de absorção em torno de 1650 cm^{-1}, referente à carbonila (C=O), característica do grupo químico cetona no qual está presente na molécula do filtro solar. Neste mesmo espectro constatou-se o aparecimento de bandas de absorção entre 1590 a 1440 cm^{-1} correspondem à deformação axial C=C do anel aromático. Em aproximadamente 1259 cm^{-1}, observou-se a banda de estiramento de C-O referente ao grupamento CH_3-O. Outra banda característica da estrutura química da BZF-3 foi constatada em aproximadamente 1223 cm^{-1}, a deformação axial do grupamento C-O proveniente do fenol presente na estrutura deste composto. Foi constatada, ainda neste mesmo espectro, a presença de bandas de absorção entre 820 e 600 cm^{-1}, referentes à deformação angular fora do plano do grupamento C-H (LI *et al.*, 2014).

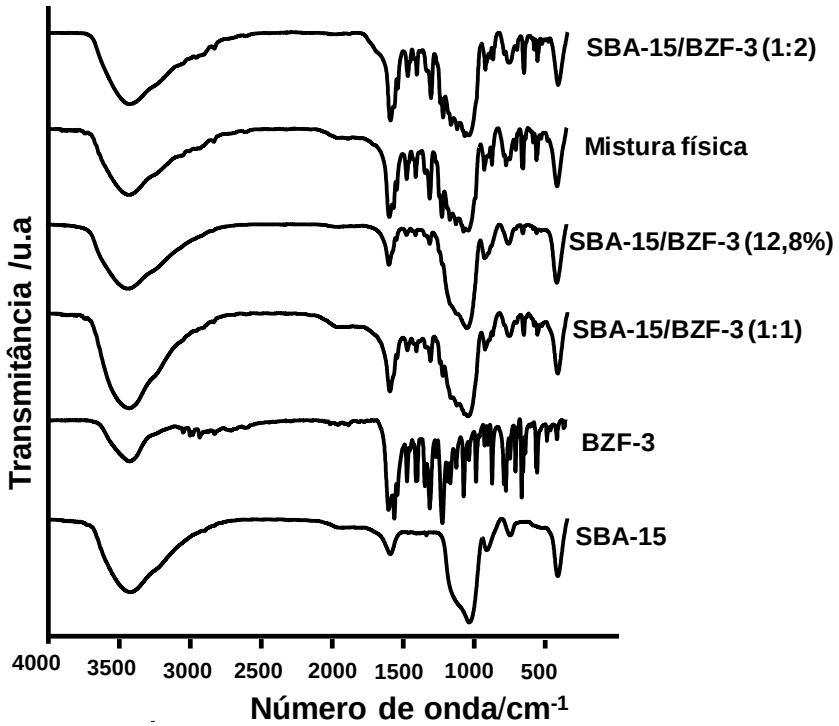


Figura 5.14 Espectro FTIR das amostras SBA-15, BZF-3, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (12,8%), Mistura física 1:1 (SBA-15/BZF-3) e SBA-15/BZF-3 (1:2).

Os espectros FTIR das amostras encapsuladas e mistura física (**Figura 5.14**) apresentaram bandas características da benzofenona-3, muitas das quais não se encontram no espectro FTIR do material mesoporoso isolado, o que permitiu correlacionar estes resultados com a presença deste filtro solar na SBA-15. Em torno de 1634 cm^{-1}, constatou-se a presença da banda de absorção relacionada à deformação axial do grupamento C=O. Na região em torno de 1590 a 1440 cm^{-1}, houve uma redução da intensidade das bandas de absorção, correspondente à deformação axial de C=C do anel aromático da benzofenona-3. Por outro lado, na região em torno de 1250 cm^{-1} no espectro FTIR da amostra SBA-15/BZF-3 foram observadas duas bandas parcialmente sobrepostas. Aquela evidenciada em aproximadamente 1200 cm^{-1} é proveniente da sílica, e outras duas bandas proveniente da BZF-3. A primeira localizada em aproximadamente em 1250 cm^{-1} é referente ao estiramento de C-O do agrupamento CH_3-O e a segunda banda em 1223 cm^{-1}, referente à deformação axial do grupamento C-O é proveniente do fenol.

Na região em torno de 820 e 600 cm^{-1}, constatou-se a presença de bandas de absorção referente à deformação angular fora do plano do grupamento C-H da BZF-3. Estes resultados corroboram com o trabalho realizado por Li e colaboradores (2014), que estudaram a encapsulação da benzofenona-3 no material mesoporoso do tipo MCM-41. Por outro lado, para a amostra de SBA-15/BZF-3 (12,8%), o que se observa com maior nitidez são as bandas de absorção da SBA-15. Este perfil se deu, provavelmente, devido a bezofenona-3 estar no interior dos mesoporos da SBA-15. Além disso, observou-se o espectro da amostra da mistura física apresentou bandas de absorção mais intensas do que o espectro do material encapsulado/incorporado na mesma proporção 1:1 (SBA-15/BZF-3). Este fato sugere que à bezofenona-3 não foi adsorvida no interior dos mesoporos da sílica da mesma forma.

A **Figura 5.15** ilustra a sobreposição dos espectros das amostras de SBA-15, AVO, SBA-15/AVO (1:1), SBA-15/AVO (6%) e Mistura física 1:1 (AVO/SBA-15). Foi observado para todas as amostras a presença de uma banda de estiramento do grupamento νOH em torno de 3450 cm^{-1}. Sequencialmente constatou-se o aparecimento de bandas de absorção em torno de 2.962 e 2.872 cm^{-1}, referentes ao estiramento $\nu_{as}CH_3$ assimétrico e ao estiramento $\nu_{s}CH_3$ simétrico. Esta banda ocorreu de forma mais intensa para a avobenzona (isolada) e para mistura física 1:1 (SBA-15/AVO), em comparação ao material encapsulado/incorporado na proporção 1:1. Entretanto não se constatou a presença desta banda na amostra de SBA-15/AVO a 6%. Além disso, observou-se que para esta mesma amostra não houve o aparecimento de outras bandas de absorção referente a avobenzona. Desta forma, sugere-se que o material esteja presente no interior dos mesoporos da sílica.

Para a amostra de avobenzona observou-se uma banda de absorção em torno de 1715 cm^{-1}, correspondente à deformação axial do C=O, oriundo do grupamento cetona presente na estrutura deste composto. Neste mesmo espectro constatou-se a presença de uma banda de absorção em torno de 1435 cm^{-1}, correspondente ao estiramento do grupo C=C do anel aromático e uma banda em 1253 cm^{-1} referente à deformação axial assimétrica do grupo químico

C-O-C e deformação axial simétrica deste mesmo grupamento em torno de 1032 cm^{-1}. Na região em torno de 797 cm^{-1} e 696 cm^{-1} observaram-se, respectivamente, bandas de absorção referentes à deformação angular fora do plano do grupamento C-H e deformação angular fora do plano das ligações C=C do anel aromático.

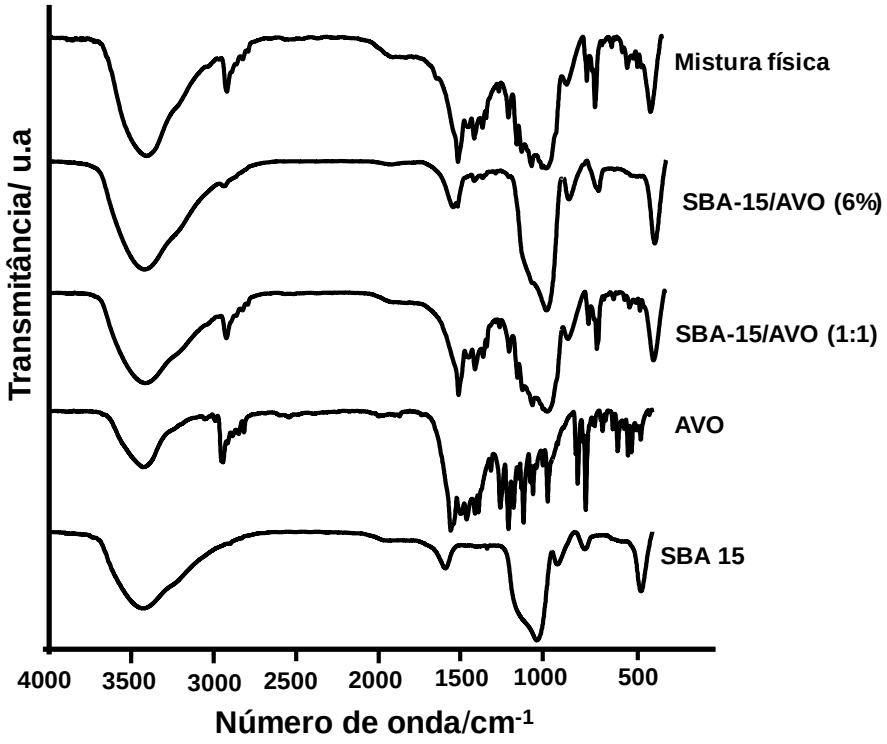


Figura 5.15 Espectro FTIR das amostras SBA-15, AVO, SBA-15/AVO (1:1), SBA-15/AVO (6%) e Mistura física 1:1 (AVO/SBA-15).

O material encapsulado/incorporado na proporção 1:1 e a mistura física (SBA-15/AVO) na proporção 1:1 apresentaram bandas de absorção características da avobenzona e do material mesoporoso, conforme descrito anteriormente. Em torno de 1625 cm^{-1}, constatou-se a presença da banda de absorção relacionada à deformação axial do grupamento C=O. Na região em torno de 1590 a 1440 cm^{-1}, houve uma redução da intensidade das bandas de absorção, correspondente ao estiramento de C=C do anel aromático. Por outro lado, na região em torno de 1250 cm^{-1} foram observadas duas bandas

parcialmente sobrepostas, sendo uma evidenciada em aproximadamente 1200 cm^{-1} proveniente da sílica, e outra em aproximadamente 1253 cm^{-1} referente ao estiramento de C-O-C proveniente da estrutura química da avobenzona. Na região em torno de 797 cm^{-1} constatou-se a presença de uma banda oriunda do grupamento C-H (avobenzona) e em 470 cm^{-1}, correspondeu à ponte de ligação observada no grupo químico O-Si-O presente no material meosporoso.

O espectro FTIR da amostra de MCO (**Figura 5.16**) evidenciou, em aproximadamente 2962 e 2872 cm^{-1}, duas bandas de absorção referentes ao grupamento CH_3. A primeira é referente ao estiramento $\nu_{as}CH_3$ assimétrico e a segunda ao estiramento ν_sCH_3 simétrico. Neste mesmo espectro observou-se uma banda de absorção em torno de 1710 cm^{-1}, referente à carbonila (C=O), característica do grupo químico éster, que está presente na molécula do filtro solar. Na região em torno de 1605 cm^{-1}, observou-se a deformação axial do grupamento C=C, proveniente do grupo químico alqueno também presente na estrutura molecular deste composto. Além disso, constatou-se em 1463 cm^{-1} a presença de uma banda, referente ao estiramento do grupo C=C do anel aromático e uma banda em 1253 cm^{-1} referente à deformação axial assimétrica do grupo químico C-O-C e deformação axial simétrica deste mesmo grupamento em torno de 1032 cm^{-1}. Nas regiões de mais baixa frequência do espectro ocorreu a vibração da ligação C-H do anel aromático (983 cm^{-1}) (KIWILSZA *et al.*, AMBROGI *et al.*, 2013a).

Os espectros das amostras SBA-15/MCO (1:1) e SBA-15/MCO (2:1) apresentaram bandas características do metoxicinamato de octila. Em torno de 2962 cm^{-1}, o espectro FTIR do material obtido no processo de encapsulação apresentou uma banda de absorção referente ao estiramento do grupamento CH_3. Além disso, foi possível constatar a presença da banda de estiramento do grupamento C=O em 1750 cm^{-1}, presente na estrutura química do metoxicinamato de octila. Na região em torno de 1605 cm^{-1}, houve uma redução da intensidade da banda de absorção correspondente à deformação axial do grupamento C=C. Devido à forte absorção das bandas típicas da sílica na região do espectro 1470 e 1100 cm^{-1} estas se sobrepõe às bandas referentes ao

estiramento do grupo C=C do anel aromático e à deformação axial assimétrica e simétrica do grupo químico C-O-C,presentes na estrutura química deste composto (AMBROGI *et al.*, 2013a).

Desta forma, estes resultados indicaram a presença deste filtro solar na sílica. Comparando os espectros da amostra de MCO e dos materiais encapsulados/incorporados, observou-se que as bandas de absorção para os materiais encapsulados/incorporados apresentaram intensidades muito mais baixas quando comparada ao espectro do MCO. Este fato sugere que há adsorção do filtro solar no interior dos mesoporos da sílica.

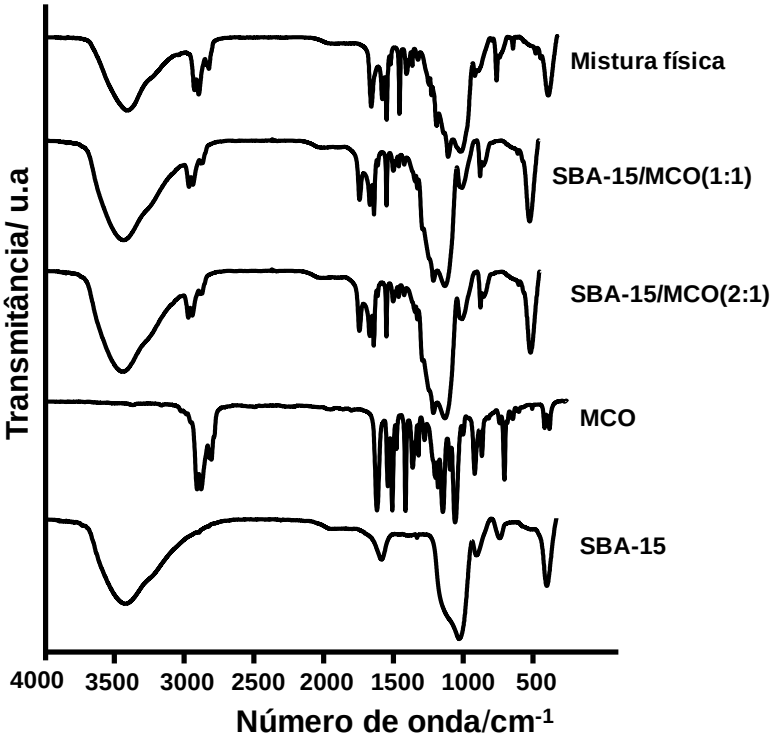


Figura 5.16 Espectros FTIR das amostras SBA-15, MCO, SBA-15/MCO (1:1), SBA-15/MCO (1:2) e Mistura física 1:1 (MCO/SBA-15).

Para a amostra da mistura física observaram-se as mesmas bandas de absorção no material encapsulado com mesma proporção 1:1 (SBA-15/MCO). Entretanto, constatou-se que o espectro de absorção da mistura física apresentou bandas mais intensas do que o espectro da amostra encapsulada,

este fato sugere que a adsorção o metoxicinamato de octila não ocorreu no interior dos mesoporos da sílica da mesma forma como ocorreu para a amostra obtida por encapsulação.

5.8 Difratometria de raios X (DRX), DSC e DTA

A curva DSC da amostra de SBA-15 (**Figura 5.17**) evidenciou apenas um evento endotérmico e (T_{pico} = 50 ºC) este evento coincide com a perda de massa observado nas curvas TG/DTG, que corresponde à eliminação de água fisiosorvida presente no material mesoporoso.

Para a amostra de BZF-3 foram observados três eventos. O primeiro é endotérmico e característico da fusão (T_{pico}= 63 ºC) deste material. O segundo evento, também, é endotérmico (T_{onset} =185ºC e T_{pico}= 213 °C) e está associado à volatilização parcial e ao início da decomposição térmica da amostra. O terceiro evento observado na curva DSC é exotérmico (368 °C e ΔH = 16 J g^{-1}) e corresponde à decomposição térmica evidenciada nas curvas TG/DTG (**Figura 5.4**). Este resultado corroborou aos estudos realizados por Li e colaboradores (2013), que caracterizaram termicamente este composto e observaram os mesmos eventos térmicos (LI *et al.*, 2015).

As curvas DSC das amostras de SBA-15/BZF-3 (1:1 e 1:2) apresentaram três e cinco eventos térmicos, respectivamente, diferentemente do que foi constatado para a amostra de benzofenona-3 isolada. O primeiro evento para ambas amostras é endotérmico e ocorreu na mesma faixa de temperatura observado para a amostra de SBA-15. Constatou-se que para ambas as amostras houve diminuição da área do pico em relação à amostra de SBA-15, devido à eliminação de água durante o processo de encapsulação/incorporação da BZF-3. Ademais, observou-se para SBA-15/BZF-3 (1:1) que o evento correspondente à fusão da benzofenona-3 desapareceu, indicando que este composto ficou aprisionado no estado amorfo dentro dos mesoporos da SBA-15 (KIWILSZA *et al.*, 2013; NETO *et al.*, 2016).

Contudo, para a amostra SBA-15/BZF-3 (1:2) constatou-se a presença do pico de fusão da BZF-3, devido à uma grande quantidade deste composto presente na superfície do material mesoporoso. A volatilização da benzofenona-3 manifestou-se nas duas curvas DSC destas amostras. O último evento é exotérmico e ocorreu aproximadamente entre 377 e 432 ºC, com T_{pico} = 411 ºC e ΔH = 52 J g^{-1} para amostra de SBA-15 / BZF-3 (1: 2). Para a amostra de SBA-15/BZF-3 (1:1) este evento ocorreu na mesma faixa de temperatura, no entanto com uma temperatura de pico mais elevada do que para a outra amostra (T_{pico} = 428 ºC e ΔH = 54 J g^{-1}).

A curva DSC do filtro encapsulado a 12,8% apresentou dois eventos térmicos. O primeiro evento está relacionado a perda de água do material mesoporoso. O segundo e último evento é exotérmico e ocorreu em uma faixa de temperatura superior em relação a amostra de SBA-15/BZF-3 (1:1). Todavia, pode-se constatar um deslocamento da temperatura de pico para temperaturas mais alta (T_{pico}= 445 °C), assim como, um valor de ΔH maior do que em comparação à amostra encapsulada/incorporada na proporção 1:1. Este acontecimento pode ser explicado, devido ao fato de que a BZF-3 permaneceu dentro dos poros da SBA-15, aumentando a estabilidade térmica do composto.

Em todos os casos pode-se observar um aumento na intensidade do evento exotérmico e o seu deslocamento para temperaturas maiores, quando se compara com a curva DSC da amostra do filtro isoladamente. Como parte do filtro solar está nos mesoporos da sílica, a estabilidade térmica da BZF-3 é aumentada e a decomposição térmica ocorre numa faixa de temperatura mais estreita, liberando uma maior quantidade de calor, o que aumenta a intensidade do evento. Além disso, foi observado um aumento da variação entálpica dos materiais encapsulados, quando comparados ao filtro solar isolado. Portanto, pode-se sugerir que houve um aumento na estabilidade térmica da benzofenona-3 como consequência da sua encapsulação no material mesoporoso.

A curva DSC da mistura física mostrou eventos semelhantes à amostra de SBA-15/BZF-3 (1:1). Contudo, observou-se a presença do pico de fusão da BZF-3. Além disso, o pico referente ao evento exotérmico ocorreu antecipado (T_{pico} = 379

^{o}C e ΔH = 39 J g $^{-1}$) em comparação com o material encapsulado/incorporado (1:1). Pelo exposto, pode-se inferir de que o processo de encapsulação/incorporação do filtro solar é mais eficiente do que a simples mistura entre os dois compostos.

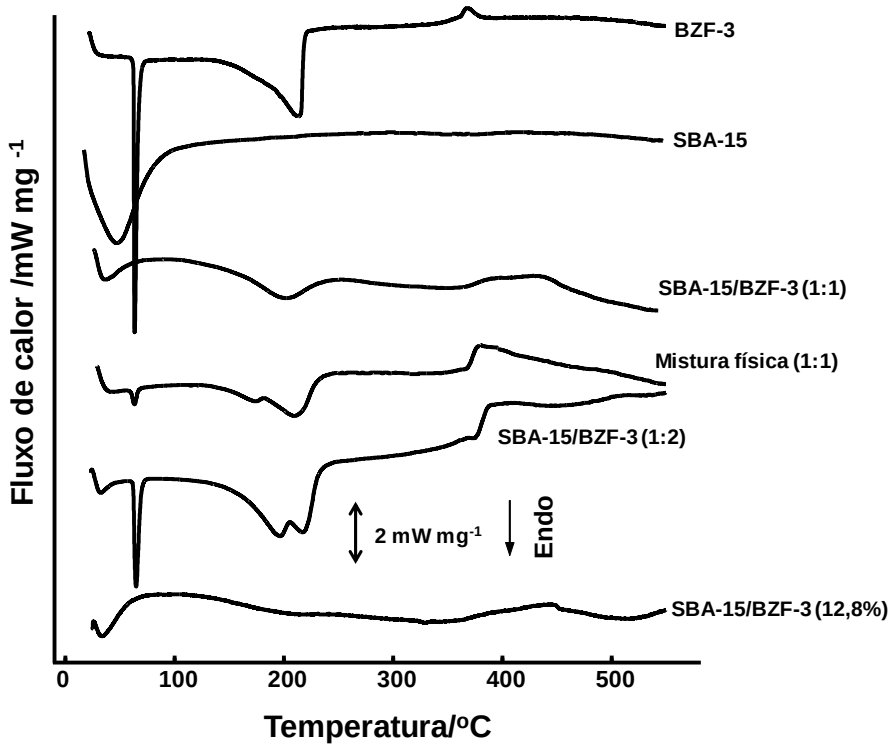


Figura 5.17 Sobreposição das curvas DSC obtidas a 10 ^{o}C min^{-1} e sob atmosfera dinâmica de N_2 das amostras de: SBA-15, BZF-3, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (1:2), SBA-15/BZF-3 (12,8%) e Mistura física (1:1).

A curva DSC da amostra de MCO (**Figura 5.18**) evidenciou dois eventos térmicos. O primeiro evento é endotérmico e ocorreu entre 150 e 288 ^{o}C com T_{onset} = 190 ^{o}C e T_{pico}= 233 °C, este evento é referente ao processo de volatilização do composto. O segundo evento observado na curva DSC é exotérmico (T_{onset} = 336 ^{o}C e T_{pico}= 354 °C) e corresponde à decomposição térmica do filtro solar.

As curvas DSC das amostras encapsuladas/incorporadas à matriz de sílica mostraram três eventos térmicos, enquanto que para a amostra da mistura física, constataram-se quatro eventos. Para todas as amostras, o primeiro evento foi endotérmico e corresponde a eliminação de água presente na SBA-15. A área

sob o pico foi significativamente menor, quando comparado ao material mesoporoso isolado, devido à eliminação de parte da água durante o processo de encapsulação/incorporação ou associação de MCO e SBA-15.

O segundo evento observado nas curvas DSC das amostras mencionadas anteriormente é endotérmico e ocorreu na mesma faixa de temperatura da curva DSC do filtro isolado. Entretanto, a mistura física apresentou dois eventos sobrepostos na mesma faixa de temperatura dos materiais encapsulados/incorporados na SBA-15. Estes eventos correspondem ao processo de volatilização do composto. O último evento das curvas DSC destas amostras é exotérmico e ocorreu na faixa entre 316 e 344 ºC. Este evento corresponde a decomposição térmica do MCO observado nas curvas TG/DTG destas amostras.

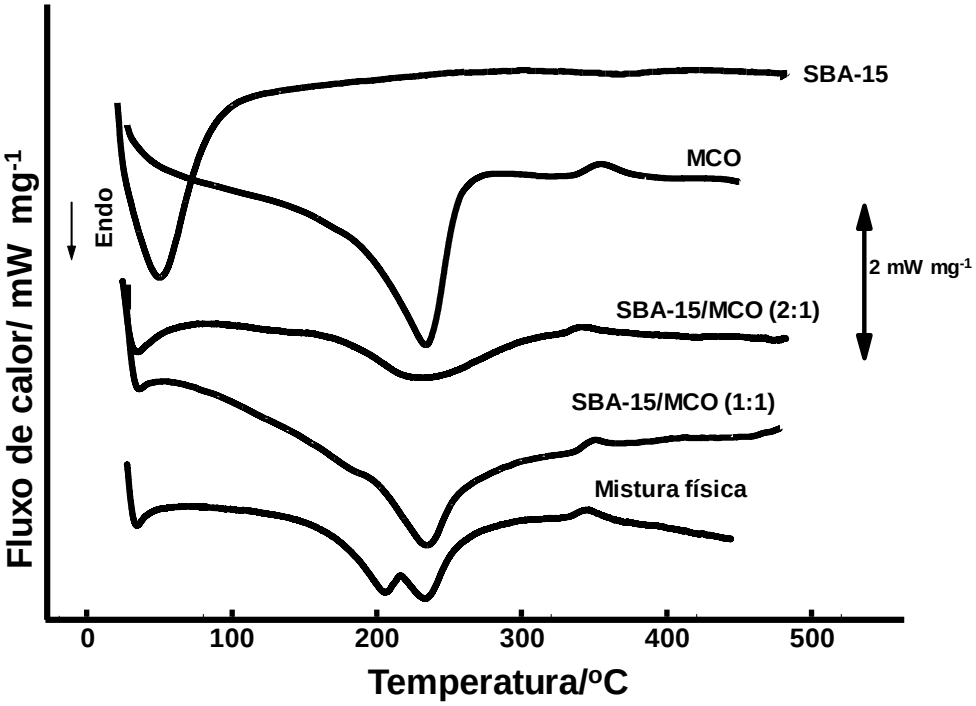


Figura 5.18 Sobreposição das curvas DSC obtidas a 10 ºC min^{-1} e sob atmosfera dinâmica de N_2 das amostras de: SBA-15, MCO, SBA-15/MCO (1:1), SBA-15/MCO (2:1) e Mistura física (1:1).

15/MCO (2:1) e mistura física, demonstraram que os eventos endotérmicos e exotérmicos, apresentaram T_{onset} e T_{pico} (**Tabela 5.6**) na mesma faixa de temperatura quando comparados aos mesmos eventos da amostra de MCO. Pelo

exposto, constatou-se que o processo de encapsulação/incorporação não aumentou a estabilidade de térmica do composto, pois o evento exotérmico correspondente a decomposição térmica do filtro solar manteve-se na mesma faixa de temperatura do material isolado.

Tabela 5.6 T_{pico} das curvas DSC das amostras de BZF-3, MCO, das amostras encapsuladas/incorporadas na SBA-15 e das respectivas misturas físicas.

Amostras	T_{pico} (ºC) dos respectivos eventos				
	1º	2º	3º	4º	5º
SBA-15	50	-	-	-	-
BZF-3	63	185	-	-	-
SBA-15/BZF-3 (1:1)*	36	201	428	-	-
SBA-15/BZF-3 (1:2)	32	64	197	217	411
Mistura física (SBA-15/BZF3)	33	445	-	-	-
SBA-15/BZF-3 12,8%	44	63	174	210	379
MCO	233	354	-	-	-
SBA-15/ MCO (1:1)	36	234	350	-	-
SBA-15/ MCO (2:1)	34	229	340	-	-
Mistura física(SBA-15/MCO)	34	205	233	344	-

As curvas DSC obtidas a 10 ºC min^{-1} e sob atmosfera dinâmica de N_2.
***SBA-15/BZF-3 (1:1)** = preparado na proporção 2 de SBA15 para 1 de BZF-3

A curva DTA da amostra de avobenzona (**Figura 5.19**) evidenciou três eventos térmicos. O primeiro evento é endotérmico e ocorreu entre 78 e 110 °C (T_{pico} = 85 °C), este evento é característico do processo de fusão do composto. O segundo evento também é endotérmico e ocorreu entre 273 e 364 °C (T_{pico} = 355 °C) e é característico do processo de volatilização da amostra. O terceiro e último evento é exotérmico (T_{pico} = 375 °C), ocorreu logo após o segundo evento e corresponde à decomposição térmica, evidenciado nas curvas TG/DTG **(Figura 5.5).**

No caso das amostras incorporadas/encapsuladas à matriz de sílica, a curva DTA evidenciou para a amostra de SBA-15/AVO (1:1) três eventos térmicos. O primeiro evento é endotérmico e ocorreu entre 50 e 98 °C (T_{pico} = 59 °C), este evento é característico da endoterma referente à eliminação de água fisiosorvida presente no material mesopososo. No entanto, não foi evidenciado o evento endotérmico referente à fusão da avobenzona. O segundo evento também é endotérmico e ocorreu entre 240 e 360 °C (T_{pico} = 340 °C) e é característico do processo de volatilização do composto presente na superfície do material mesoporoso. O terceiro evento é exotérmico e ocorreu entre 355 e 492 °C (T_{pico} = 406 °C), evento correspondente à decomposição do material. A avaliação comparativa entre os resultados de DTA obtidos para a amostra de AVO e da amostra SBA-15/AVO (1:1), percebeu-se que o último evento exotérmico foi deslocado para temperaturas mais elevadas. Desta forma sugere-se um aumento na estabilidade térmica da avobenzona como consequência da sua encapsulação no material mesoporoso.

A curva DTA da mistura física apresentou eventos térmicos semelhantes à amostra encapsulada/incorporada. Entretanto observou-se que, inicialmente, ocorreram dois eventos. O primeiro referente à perda de água adsorvida no material mesoporoso, enquanto que o segundo evento está relacionado ao processo de fusão da avobenzona. Além disso o terceiro evento desta amostra, apresentou temperatura de pico menor (T_{pico} = 394 °C) em comparação a amostra SBA-15/AVO (1:1).

Para a amostra de SBA-15/AVO (6%), a curva DTA apresentou dois eventos térmicos. O primeiro evento foi semelhante aos eventos relatados para amostras anteriores. Porém, foi constatado o desaparecimento do evento referente à volatilização da avobenzona presente na superfície do material mesoporoso. O segundo evento é exotérmico e ocorreu entre 238 e 437 °C (T_{pico} = 380 °C) e é devido à decomposição térmica da AVO presente nos mesoporos. A avaliação comparativa entre os resultados de DTA obtidos para a amostra da amostra de SBA-15/AVO (6%), mistura física e da associação SBA-15/AVO (1:1), percebeu-se que o último evento exotérmico apresentou temperatura de

pico menor. Isso ocorreu devido a menor quantidade de material presente na matriz de sílica.

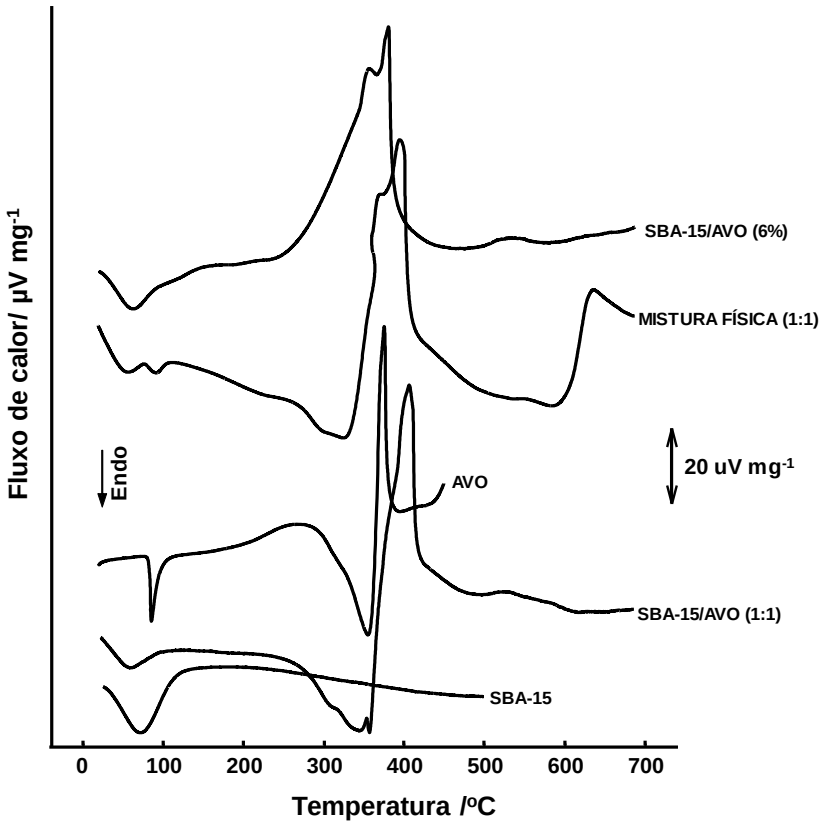


Figura 5.19 Sobreposição das curvas DTA obtidas a 10 ºC min^{-1} e sob atmosfera dinâmica de ar das amostras de: SBA-15, AVO, SBA-15/AVO (1:1), SBA-15/AVO (6%) e Mistura física.

Em suma, observaram-se que as curvas DSC das amostras de BZF-3 e curvas DTA das amostras de AVO encapsuladas/incorporadas na SBA-15 não apresentaram o evento endotérmico de fusão destes compostos, tal o qual se observou para as espécies isoladas. Este fato comprovou que as substâncias se tornaram amorfa quando presentes na matriz de sílica, ou então, mesmo ocorrendo a fusão das espécies, a presença da matriz de sílica mascara o aparecimento deste evento endotérmico. Já para a mistura física entre a SBA-

15, AVO e BZF-3, observou-se a presença de um pico de fusão correspondente a estes compostos.

Os difratogramas de DRX de alto ângulo da amostra de SBA-15, dos filtros solares isolados (AVO e BZF-3), dos filtros encapsulados na sílica e a mistura física destes no material mesoporoso estão ilustrados nas **Figuras 5.20 a 5.23**. Para a amostra de MCO não foi possível empregar esta técnica, já que o material está sob a forma líquida e as amostras desse material presente na sílica mostraram-se amorfas.

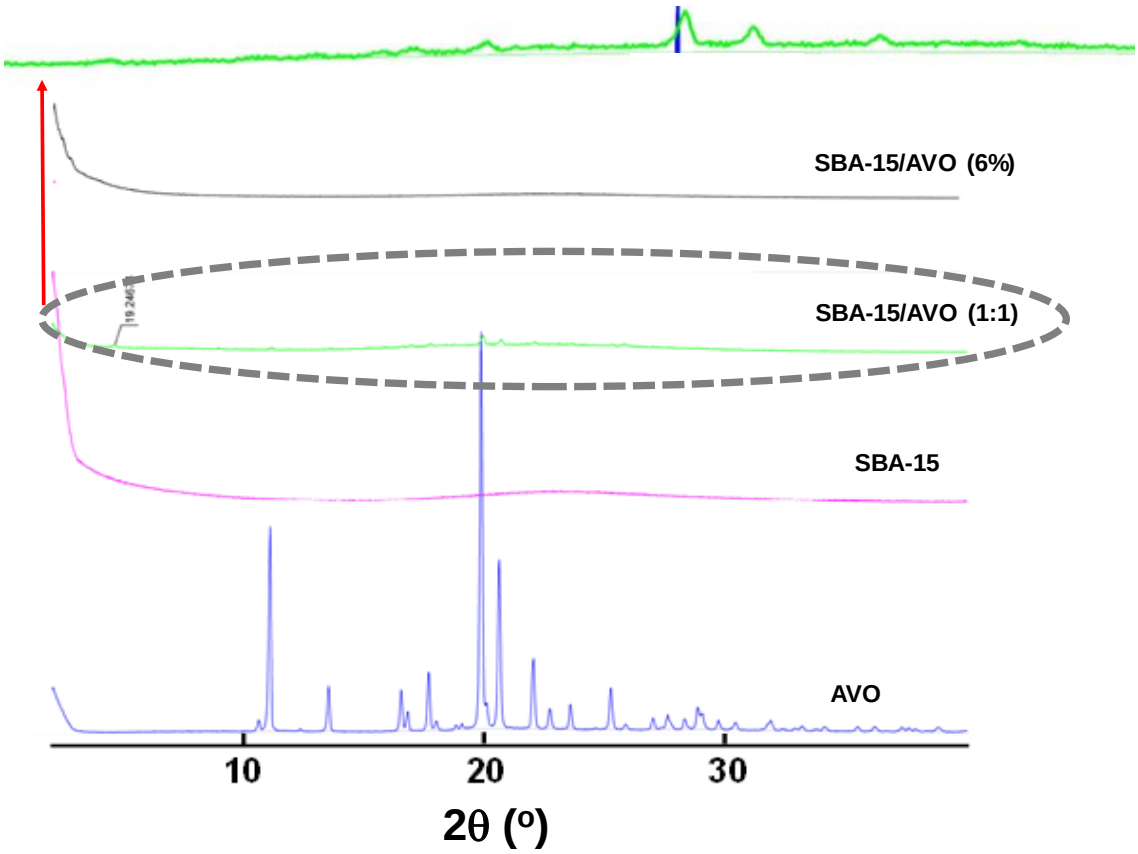


Figura 5.20 Difratogramas de raios X das amostras de SBA-15/AVO (6%), SBA-15/AVO (1:1), SBA-15 e AVO. Ampliação do difratograma de raio X da amostra SBA-15/AVO (1:1).

O difratograma da amostra de AVO apresentou um grande número de picos de difração, indicando que o material é cristalino. A mistura física e o material encapsulado/incorporado na proporção 1:1 apresentaram alguns picos característicos da avobenzona, porém de menor intensidade do que o material não encapsulado/incorporado na sílica. Pode-se sugerir que parte deste composto encontra-se dentro dos mesoporosos da sílica e outra parte adsorvida na superfície deste material. Em contrapartida a matriz mesoporosa do tipo SBA-15 apresentou apenas o halo de difração entre 20 e 30º, característico da amorficidade do material. O difratograma de raios X da amostra de SBA-15/AVO (6%) não apresentou raias de reflexão indicando que o material apresentou-se amorfo após o processo de encapsulação (CHARNAY *et al.,* 2004; KIWILSZA *et al.*, 2013).

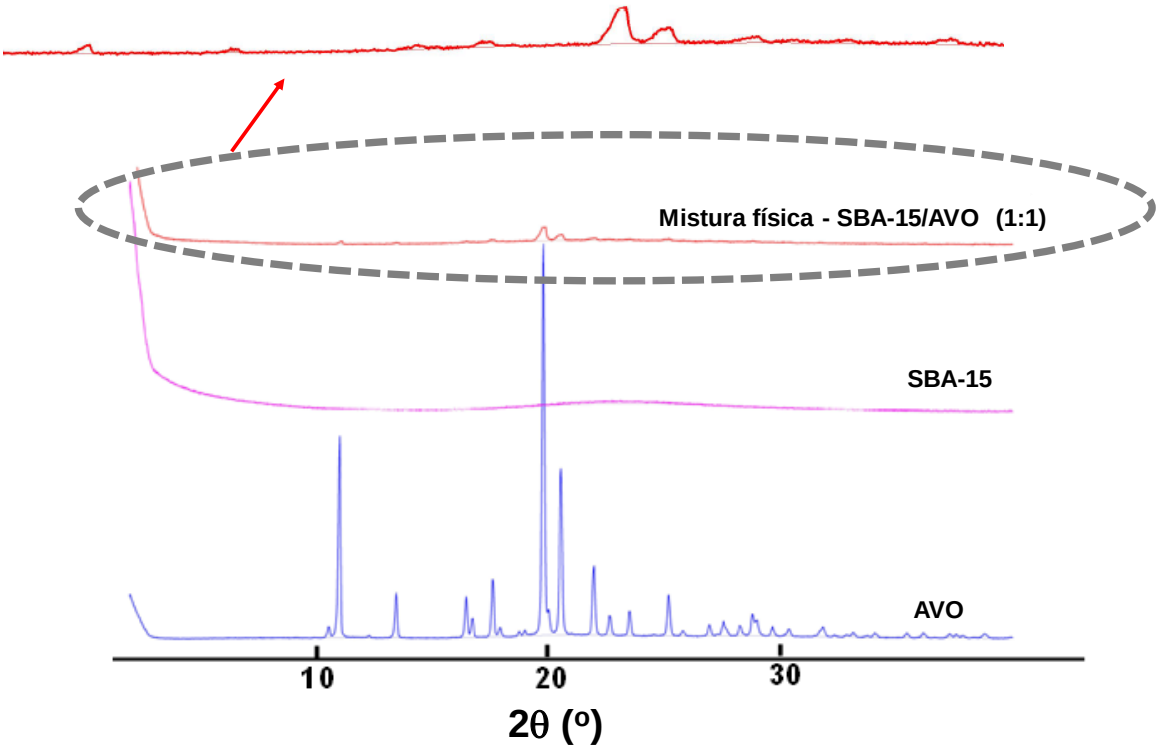


Figura 5.21 Difratogramas de raios X das amostras de mistura física de SBA-15 e AVO (1:1), para SBA-15 e para AVO. Ampliação do difratograma de raio X da amostra mistura física – SBA-15/AVO (1:1).

O difratograma da amostra BZF-3 apresentou diversos picos de difração, constatando que se trata de um material cristalino. No entanto, os difratogramas das amostras de SBA-15/BZF-3 (1:1) e SBA-15/BZF-3 (12,8%) não apresentaram raias de reflexão, a ausência de picos de difração característico da BZF-3 no difratograma dos materiais indicou a ausência de estrutura cristalina. Neto e colaboradores (2015) encapsularam predinicarbato na sílica mesoporosa do tipo SBA-15. Os autores constataram que após o processo de encapsulação o fármaco apresentou-se no estado amorfo (NETO *et al.*, 2015). Em contrapartida verificou-se que para a mistura física entre BZF-3 e SBA-15 e para a amostra SBA-15/BZF-3 (1:2) (ampliação da **Figura 5.23**) há a presença de picos característicos da BZF-3 nos difratogramas, embora com uma intensidade menor do que em comparação ao filtro solar isolado. (SHEN *et al.*, 2011; GUO *et al.*, 2013; KIWILSZA *et al.*, 2013).

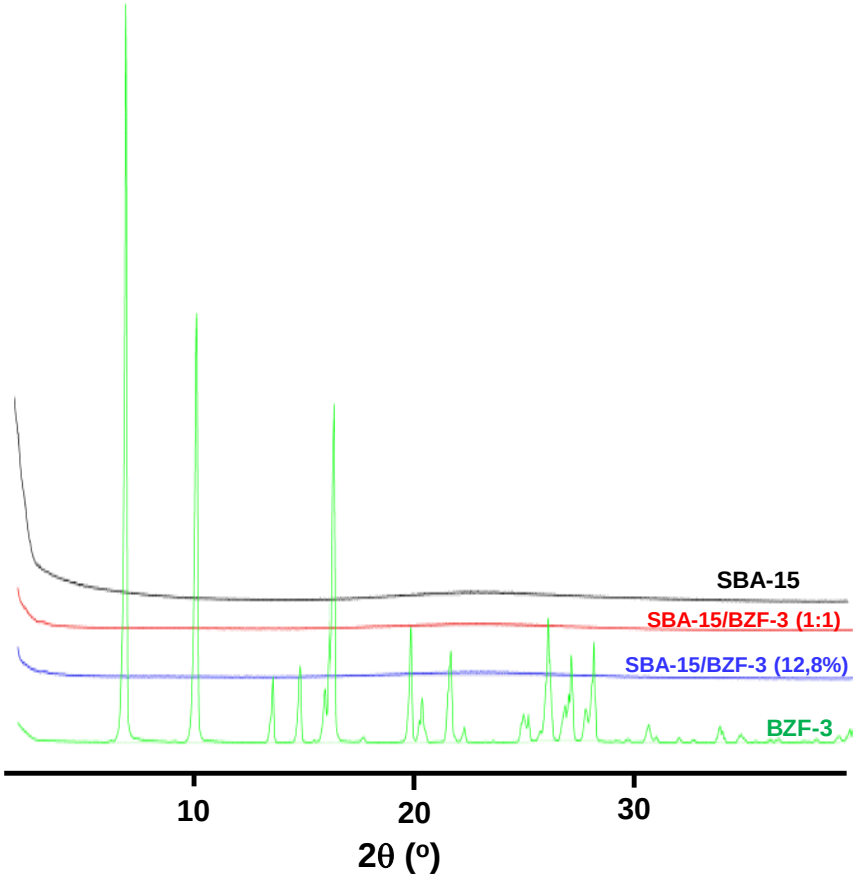


Figura 5.22 Difratogramas de raios X das amostras de SBA-15, SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (12,8%) e BZF-3.

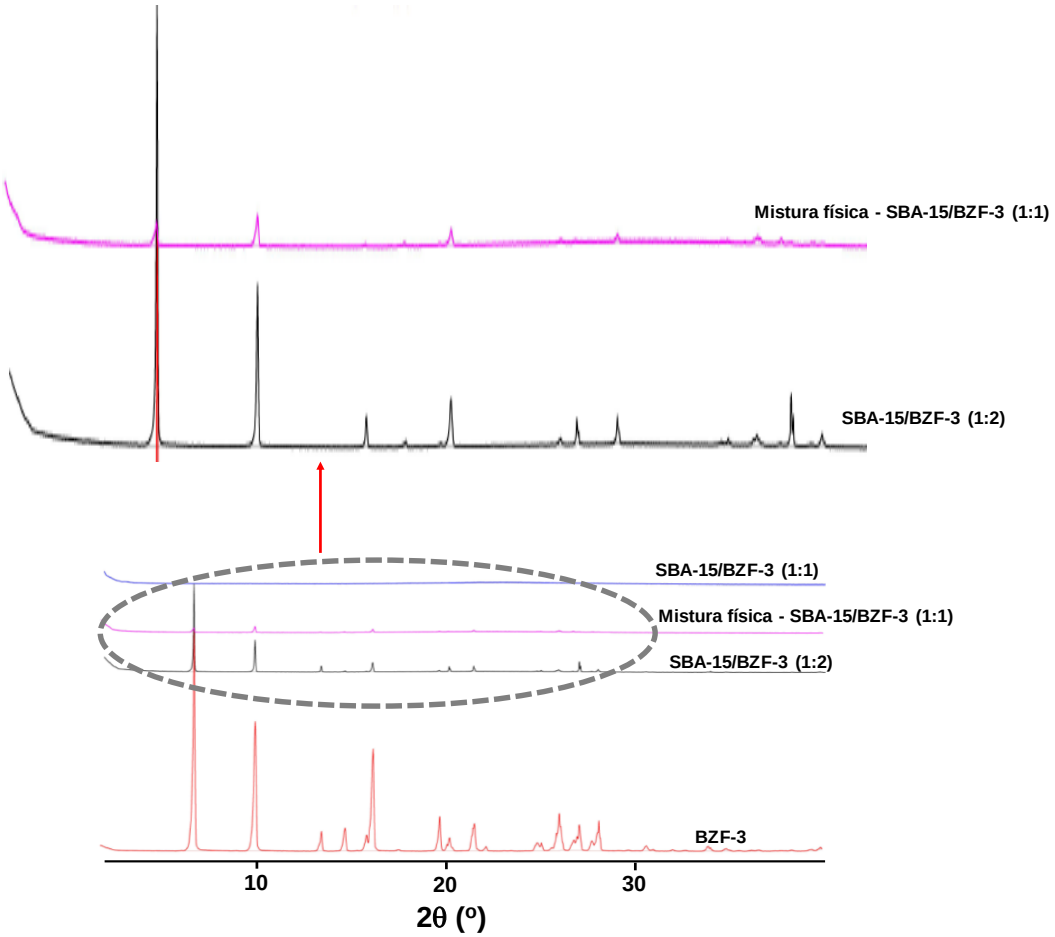


Figura 5.23 Difratogramas de raios X das amostras de SBA-15, SBA-15/BZF-3 (1:1), mistura física de SBA-15/BZF-3 (1:1), SBA-15/BZF-3 (1:2), e BZF-3. Ampliação dos difratogramas de raio X da amostra SBA-15/BZF-3 (1:2) e mistura física de SBA-15/BZF-3 (1:1)

Pode-se inferir que os resultados apresentados corroboraram aos resultados de DSC e DTA**.**

5.9 Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de filtros solares por CLAE/UV e UHPLC/MS/MS

5.9.1 Linearidade

A linearidade é o parâmetro que demonstra a capacidade de um método analítico de fornecer resultados que são diretamente proporcionais à concentração da substância em exame na amostra, dentro de um intervalo especificado. Se houver relação linear aparente, os resultados devem ser avaliados por métodos estatísticos apropriados (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005).

Os métodos analíticos CLAE e UHPLC/MS/MS apresentaram linearidade de resposta da área do pico em função da concentração para as soluções dos filtros solares padrões de referência primário, no intervalo de concentrações entre 2,5 e 100,0 µg mL^{-1} para BZF-3; 5,0 e 100 µg/mL para MCO; e 7,5 e 50,0 µg mL^{-1} para AVO para o método de CLAE. Para o método de UHPLC/MS/MS o intervalo de concentrações foi entre 10 e 100 ng mL^{-1} para os três compostos. Na **Tabela 5.7** e **5.8** estão descritos os resultados experimentais para a construção das curvas analíticas das substâncias químicas de referência e o coeficiente de correlação, representada pelos gráficos nas **Figuras 5.24** e **5.25**. Os coeficientes de correlação (R^2) foram entre 0,9967 e 0,9990. Tal fato permitiu constatar que as curvas analíticas apresentaram características de linearidade, em consonância com as determinações normativas (BRASIL, 2003; INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005).

Tabela 5.7 Dados para a construção das curvas analíticas das diluições dos filtros solares padrões de referência primário para o método de CLAE.

BZF-3 (µg mL^{-1})	**A_1**	**A_2**	**A_3**	**$A_{média}$ ± dp**	**R^2**
2,5	17092,6	16693.0	18336,6	17374,1 ± 857,2	
5,0	35527,0	34838.0	33796,6	3472,6 ± 871,1	
10,0	76709,6	71351.3	71425,3	73162,1± 3072,5	0,9988
25,0	183105,0	183341.0	170389,0	179735,3 ± 8164,3	
50,0	354724,0	366345.0	363613,3	361560,8 ± 6076,3	
75,0	537477,6	521803.3	523154,6	522253,8 ± 780,2	
100,0	754436,6	739179.3	715597,3	735739,2 ± 18661,2	
OMC (µg mL^{-1})	**A_1**	**A_2**	**A_3**	**$A_{média}$ ± dp**	**R^2**
5,0	20092,3	21906,3	20726,7	20908,4 ± 920,6	
10,0	42374,3	45451,0	42182,0	43335,8± 1834,4	
25,0	100522,0	102873,3	97450,0	100281,8 ± 2719,6	0,9993
50,0	201058,0	210317,3	201271,0	204215,4± 5285,5	
75,0	312598,3	307375,7	298682,3	306218,8 ±7029,8	
100,0	412389,7	414247,0	410665,0	412257,0 ± 1791,4	
AVO (µg mL^{-1})	**A_1**	**A_2**	**A_3**	**$A_{média}$ ± dp**	**R^2**
7,5	9296,7	6981,3	6879,0	7719,0 ± 1367,3	
10,0	14872,2	10281,7	13190,3	12781,4± 2322,4	
15,0	24139,8	21477,7	16702,0	20773,2 ± 3768,6	0,9962
20,0	38990,3	31569,0	31467,0	34008,8 ± 4314,5	
30,0	69595,5	60098,7	51746,7	60480,3 ± 8930,5	
50,0	131166,8	106614,7	104166,3	113982,6 ± 131166,8	

Legenda. A_1-A_3: réplicas das áreas dos picos; **$A_{Média}$± dp**: média ± desvio padrão das áreas dos picos, (n=3).

Tabela 5.8. Dados para a construção das curvas analíticas das diluições do filtros solares padrões de referência primário para método de UHPLC/MS/MS

BZF-3 (ng mL^{-1})	**A_1**	**A_2**	**A_3**	**$A_{média}$ ± dp**	**R^2**
10,0	178779,4	188443,4	177119,3	181447,3 ± 1173,8	
15,0	198766,5	213261,1	196580,2	202869,2 ±1546,0	
20,0	226160,2	242726,1	207363,8	225416,6 ±13291,1	0,9987
40,0	312121,8	350395,3	327667,6	330061,5 ±10992,5	
50,0	372161,5	410533,5	354213,9	378969,6 ±12690,9	
60,0	423628,2	462281,9	454959,7	446956,5 ±22154,8	
80,0	528690,1	568833,8	517088,6	538204,1 ±8203,5	
100,0	597263,3	679049,2	625063,9	633792,1 ±19658,0	
MCO (ng mL^{-1})	**A_1**	**A_2**	**A_3**	**$A_{média}$ ± dp**	**R^2**
10,0	311361,9	314041,8	301552,2	308985,3 ± 6575,3	
15,0	340426,3	334163,6	339887,9	338159,3 ± 3470,8	
20,0	383277,0	371699,8	354868,3	369948,3 ± 14285,1	0,9962
40,0	541553,4	583171,8	554053,4	559592,9 ± 21355,0	
50,0	635441,6	628072,1	607649,6	623721,1 ± 14397,8	
60,0	726894,3	711729,9	732527,9	723717,4 ± 10756,8	
80,0	871392,1	913413,3	861785,5	882197,0 ± 27457,5	
100,0	988595,5	1018203,3	994559,3	1000452,7 ± 15659,0	
AVO (ng mL^{-1})	**A_1**	**A_2**	**A_3**	**$A_{média}$ ± dp**	**R^2**
10,0	393948,2	395621,5	389280,5	392950,1 ± 3286,3	
15,0	428384,5	411347,2	420330,3	420020,6 ± 8522,9	
20,0	465984,7	455432,2	437722,1	453046,3 ± 14281,6	
40,0	616607,8	663114,9	644809,6	641510,8 ± 23428,4	0,9974
50,0	723231,6	733688,7	710556,3	722492,2 ± 11583,9	
60,0	823494,8	821510,3	838654,3	827886,4 ± 9377,9	
80,0	972794,2	1008930,9	987528,4	989751,2 ± 18170,6	
100,0	1084864,6	1170433,4	1122754,0	1126017,3 ± 42877,6	

Legenda. A_1-A_3: réplicas das áreas dos picos; **$A_{Média}$± dp**: média ± desvio padrão das áreas dos picos, (n=3

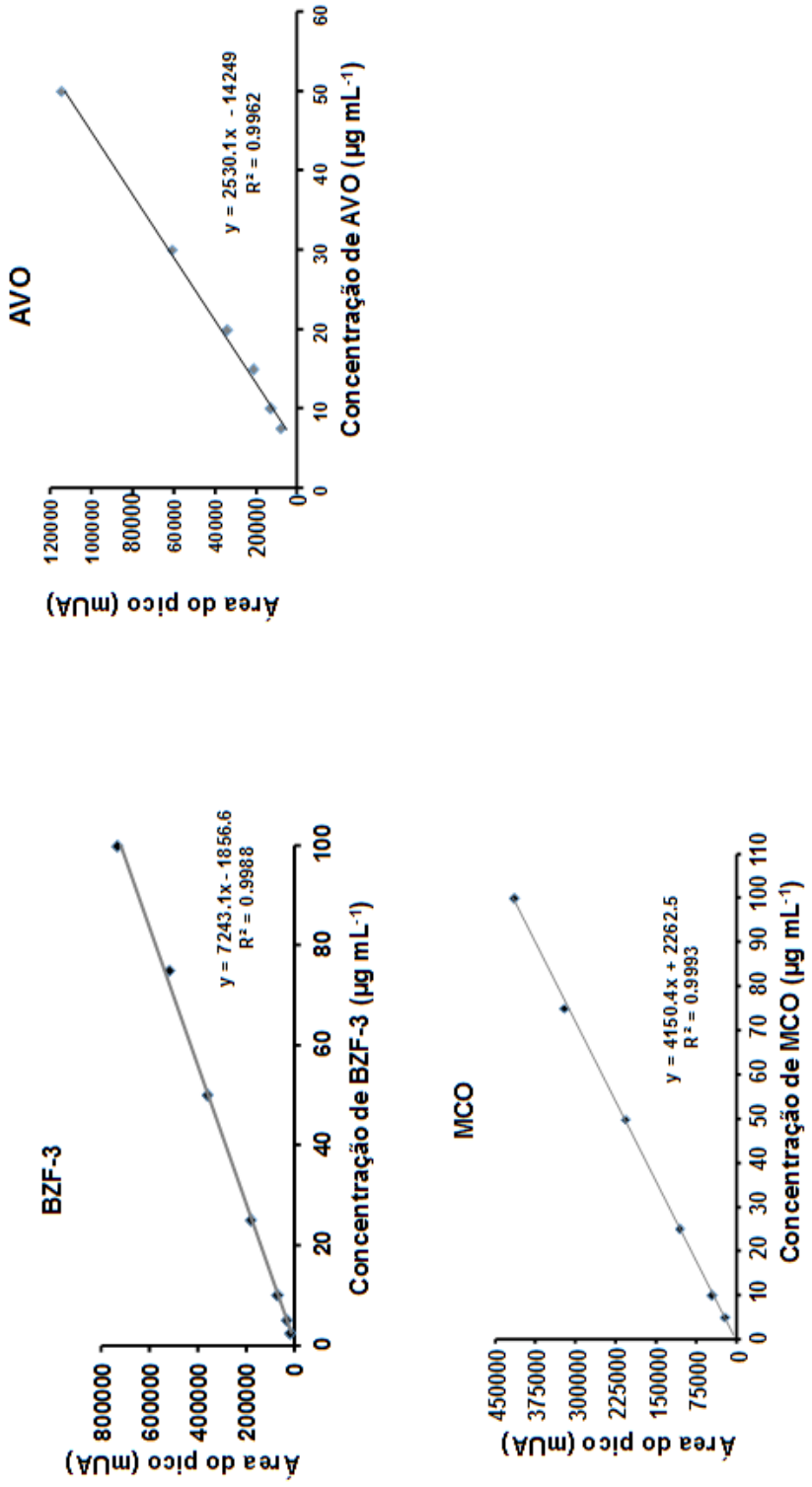


Figura 5.24 Curva analítica dos filtros solares padrões de referência primário. As concentrações das substâncias químicas de referência foram: BZF-3 (2,5; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75 e 100,0 µg mL^{-1}), MCO (5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 75 e 100,0 µg mL^{-1}) e AVO (10,0; 15,0; 20,0; 30,0 e 50,0 µg/mL^{-1}). Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20°C.

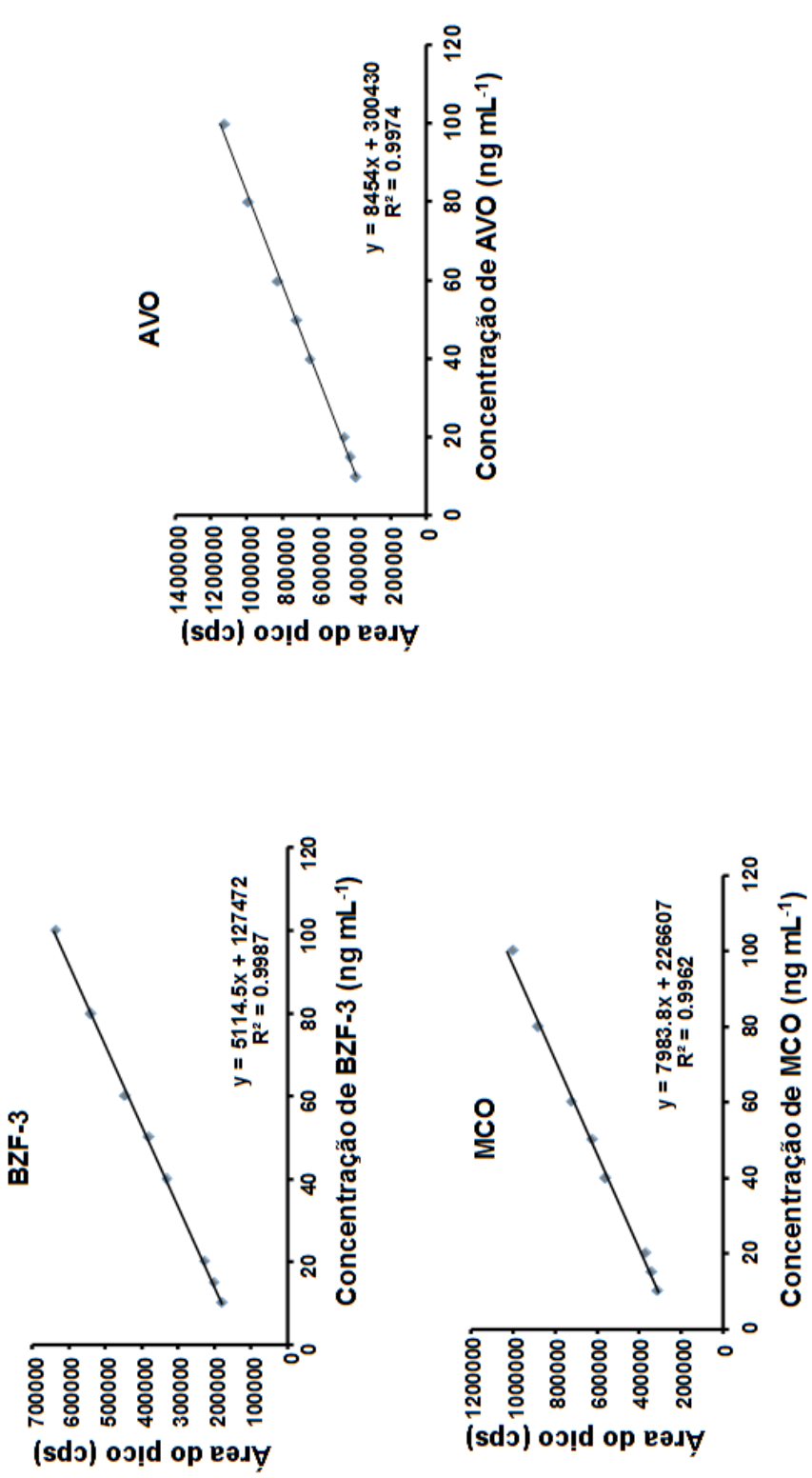


Figura 5.25 Curva analítica dos filtros solares padrões de referência primário. As concentrações das substâncias químicas de referência foram: BZF-3, OMC e AVO (10,0; 15,0; 20,0; 40,0; 50,0; 60,0; 80,0 e 100,0 ng mL^{-1}. Condições cromatográficas: Coluna Waters XBridge® BEH C18 2,1 × 50 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática acetonitrila: água + 0,01% ácido fórmico (85:15), vazão: 0,3 mL min^{-1}; volume de injeção 5,0 µL; temperatura: 25°C.

5.9.2 Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção é o menor valor de concentração da substância em análise presente em uma amostra que pode ser detectado com grau de confiabilidade adequado, porém não necessariamente quantificado. A análise é feita através de soluções de concentrações conhecidas e decrescentes da substância, até a menor concentração detectável com precisão e exatidão aceitáveis (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005).

Pela utilização da **Equação 4.1** (item **4.6.2.2**) e das informações descritas na **Tabela 5.9**, calculou-se os limites de detecção (LD) dos filtros solares padrões de referência primários. Os valores estão descritos na **Tabela 5.9** para os métodos de CLAE e UHPLC/MS/MS.

Tabela 5.9 Resultados da análise da regressão linear e determinação quantitativa pelos métodos de CLAE e UHPLC/MS/MS para os filtros solares BZF-3, AVO e MCO.

Parâmetros metodologia por CLAE/UV			
Filtros solares	**BZF-3**	**AVO**	**MCO**
Equação da reta	A = 7257x - 3427	A = 2530,1x - 14249	A = 4150,4x + 2262,5
LD** (µg mL^{-1})	0,3	1,8	1,2
LQ* (µg mL^{-1})	2,5	7,5	5,0
Parâmetros metodologia por UHPLC/MS/MS			
Filtros solares	**BZF-3**	**AVO**	**MCO**
Equação da reta	A = 5114,5x + 127472	A = 8454x + 300430	A = 7983,8x + 226607
LD** (ng mL^{-1})	0,8	1,3	2,8
LQ* (ng mL^{-1})	10,0	10,0	10,0

Legenda: *Experimental; **Estimado; LQ = limite de quantificação; LD = limite de detecção; BZF-3 = benzofenona-3; AVO = avobenzona; MCO = metoxicinamato de octila; x = coeficiente angular; A = área.

O limite de quantificação é a menor concentração da substância analisada que pode ser determinada pela análise de soluções com concentrações conhecidas e decrescentes da substância, até a obtenção da menor concentração detectada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições

experimentais estabelecidas (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005).

Os limites de quantificação (LQ) foram determinados experimentalmente, a partir da avaliação de diferentes concentrações dos três filtros solares solubilizados em metanol (método de CLAE) e acetonitrila/pele (método de UHPLC/MS/MS- extrato do homogeinizado da pele) até o limite em que as amostras apresentaram valores de precisão e exatidão adequados. Os resultados são apresentados na **Tabela 5.9** e estes estão em consonância com os dados descritos na literatura (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005; KIM *et al.*, 2015; PERUCHI; RATH, 2012; ZAFRA-GÓMEZ; BALLESTEROS; NAVALÓN, 2015).

5.9.3 Especificidade e pesquisa de interferentes

A especificidade é a capacidade do método analítico de medir e diferenciar a substância estudada de componentes que possam estar presentes na amostra, tais como metabólitos, impurezas, compostos de degradação ou componentes da matriz (BRASIL, 2003).

Para a metodologia de CLAE, a avaliação da especificidade e pesquisa de interferentes ocorreu pela comparação dos cromatogramas da formulação em bastão contendo a SBA-15 sem adição dos filtros solares (**F2**), solução dos filtros solares padrão em metanol, formulação contendo os três filtros solares (**F3**) e formulação contendo os filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 (**F4**), **Figuras 5.26, 5.27, 5.28** e **5.29**, respectivamente. A análise dos cromatogramas indicou que BZF-3, MCO e AVO apresentaram tempo de retenção: 5,4, 15,0 e 16,7 minutos, respectivamente. Observou-se que a matriz isenta dos filtros não apresentou interferente. Sendo asssim, o método pode ser utilizado para identificação e quantificação dos filtros solares nas formulações fotoprotetoras (SALVADOR; DE LA OSSA; CHISVERT, 2003; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2013).

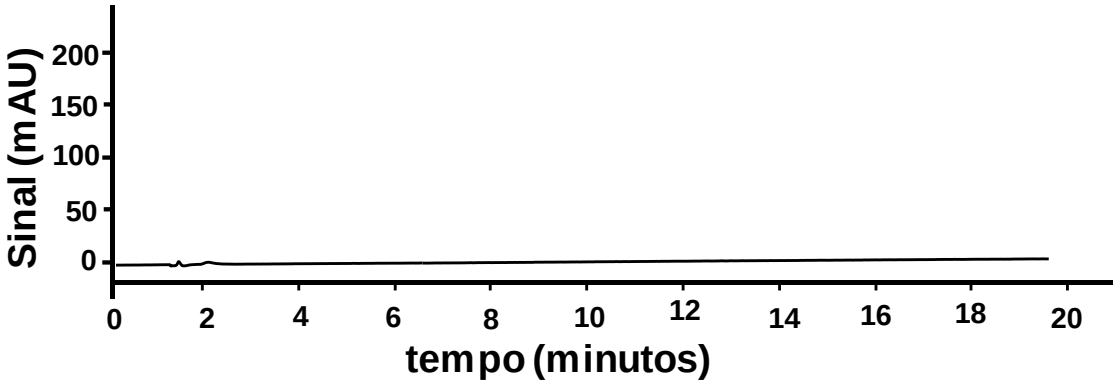


Figura 5.26 Cromatograma referente à formulação moldada na forma de bastão com SBA-15 sem a presença dos filtros solares (F2). Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20 °C.

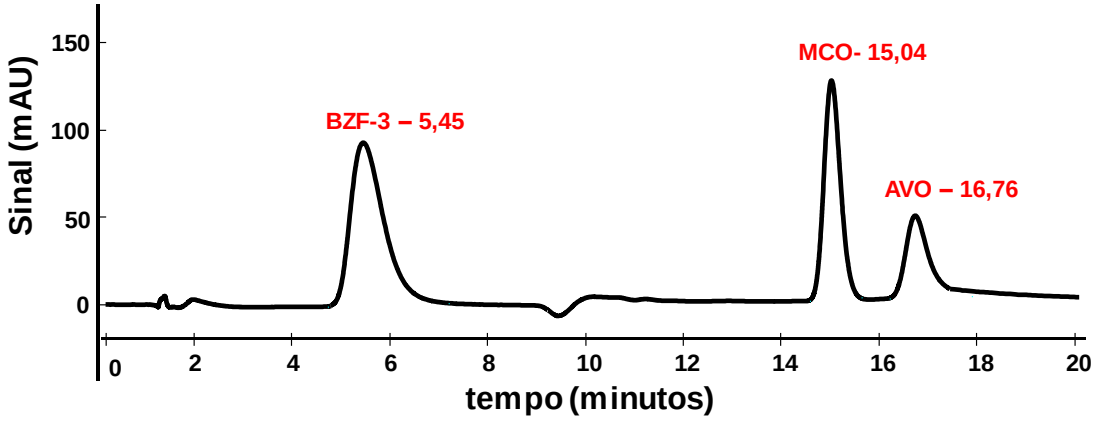


Figura 5.27 Cromatograma referente à BZF-3, MCO e AVO, padrão de referência na concentração de 100 µg mL^{-1}. Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20 °C.

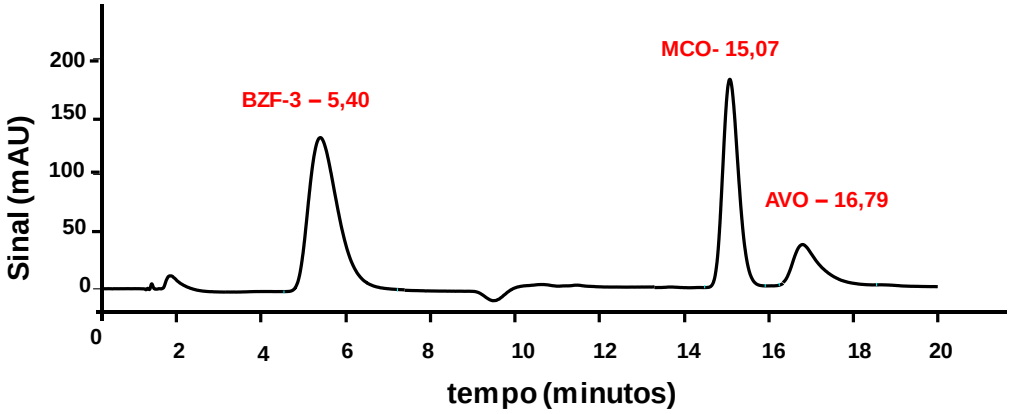


Figura 5.28 Cromatograma referente à BZF-3, MCO e AVO, presentes na formulação moldada na forma de bastão (F3), nas concentrações de 59,6; 68,5 e 50,5 µg mL^{-1}, respectivamente. Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20 °C.

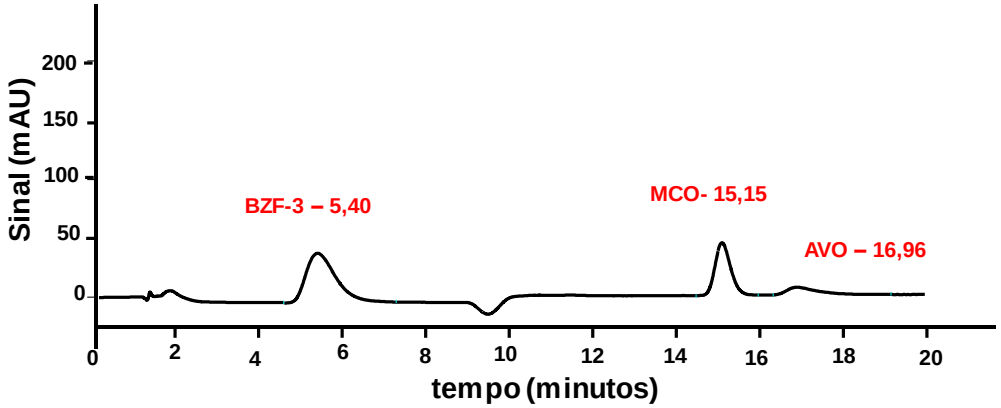


Figura 5.29 Cromatograma referente à BZF-3, MCO e AVO, presentes na formulação moldada na forma de bastão (F4), nas concentrações de 47,3; 81,4 e 36,4 µg mL^{-1}, respectivamente. Condições cromatográficas: Coluna LiChrospher100® de fase reversa C-18 125 x 40 mm e diâmetro de partícula de 5,0 µm; fase móvel isocrática metanol: água (85:15), vazão: 1,0 mL min^{-1}; volume de injeção 20,0 µL; detecção 238,0 nm, temperatura: 20 °C.

A **Figura 5.30** ilustra a sobreposição dos cromatogramas da solução em acetonitrila do homogeneizado da pele centrifugado e a referida solução adicionado os filtros solares padrões nas concentrações de 100 ng mL^{-1}. A **Figura 5.31** ilustra sobreposição da solução tampão pH 7,4 (PBS+BRIJ® C20) e a referida solução contendo os filtros padrão de referência. A análise dos cromatogramas contendo os filtros solares indicou que a solução de acetonitrila

contendo a pele e a solução tampão não apresentaram interferentes. Ademais, não se observou qualquer supressão e/ou intensificação do sinal na região do cromatograma próxima aos picos dos analitos (KIM *et al.*, 2015).

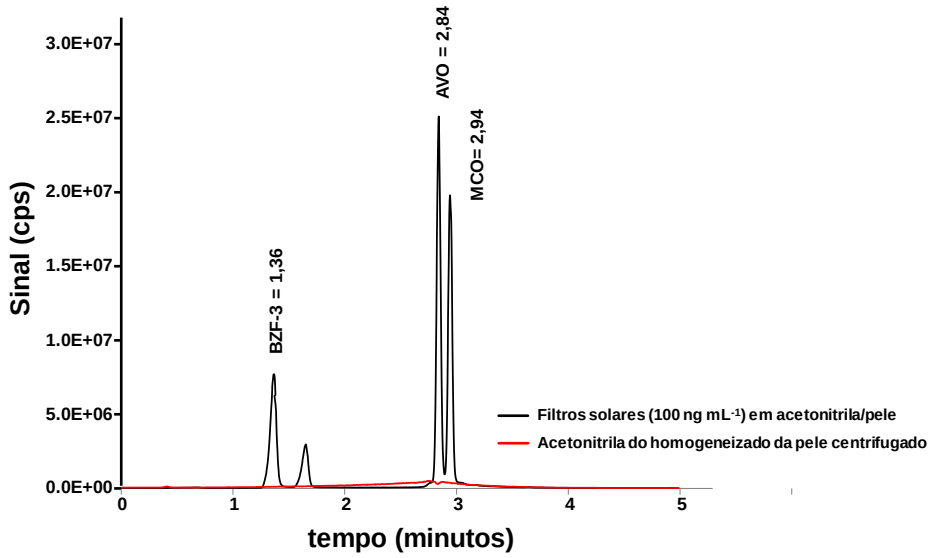


Figura 5.30 Cromatogramas referente à solução em acetonitrila do homogeinizado de pele e solução padrão dos filtros solares em acetonitrila/pele.

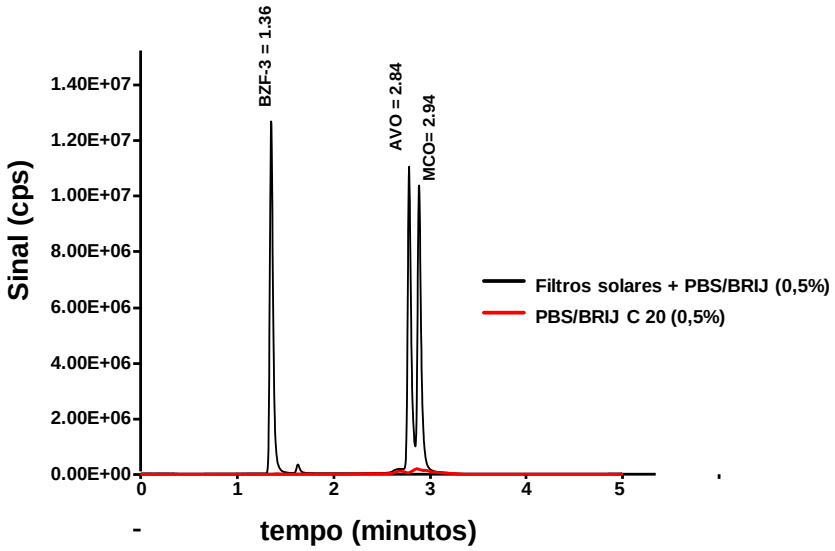


Figura 5.31 Cromatogramas referente à solução tampão (PBS+BRIJ® C20 – 0,5%) e solução padrão dos filtros solares em PBS+BRIJ® C20.

5.9.4 Precisão e exatidão

A precisão dos métodos foram avalidas pela repetibilidade intra e interdias e a proximidade dos resultrados obtidos foi expressa pelo DPR (%). Tanto para metodologia de CLAE como para UHPLC/MS/MS, os cálculos da precisão intra e interdias foram determinados para três concentrações distintas dos filtros solares padrão de referência e estes valores estão descritos nas **Tabelas 5.10 e 5.11**. Os valores de desvio padrão obtidos foram inferiores a 15,0%, para o ensaio intra e interdias (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2013).

A exatidão foi confirmada dentro do intervalo de linearidade estabelecido e expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a teórica correspondente. Os resultados para exatidão intra e interdias foram entre 87,1 e 109,2% e foram determinados para três concentrações distintas dos filtros solares, que são descritas nas **Tabelas 5.10 e 5.11**. Com base nos resultados, afirmou-se que os métodos podem ser aplicados na quantificação dos filtros solares nas formulações fotoprotetoras e nos experimentos de permeação, retenção e biodistribuição (BRATKOVICS; SAPOZHNIKOVA, 2011; INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005; KIM *et al.*, 2015; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2013).

Tabela 5.10. Precisão e exatidão intra e interdia das soluções em metanol de BZF-3, AVO e MCO padrões de referência para a metodologia de CLAE/UV

Filtros C_T (µg mL^{-1})	**Intradia**						**Interdias**					
BZF-3	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**
100,0	101,4	101,3	101,3	101,3 ± 0,5	0,1	101,3	103,0	102,2	100,7	102,0 ± 0,9	3,0	102,0
50,0	52,9	53,8	53,8	51,2 ± 0,3	0,7	107,0	48,7	48,3	51,2	49,4 ± 1,5	1,4	98,8
10,0	10,9	10,9	10,9	10,2 ± 0,1	0,2	109,2	10,8	10,8	10,2	10,6 ± 0,1	4,1	106,0
AVO	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**
50,0	50,9	51,3	51,6	51,3 ± 0,4	0,8	102,5	50,8	50,7	50,1	50,5 ± 0,4	10,3	101,0
30,0	28,4	28,4	28,3	28,4 ± 0,0	0,2	94,6	29,6	29,5	30,7	29,9 ± 0,6	7,3	99,8
15,0	13,2	12,8	13,2	13,1± 0,2	2,7	87,1	14,7	13,2	14,6	14,2 ± 0,8	10,3	94,5
MCO	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**
100,0	96,9	97,4	96,6	97,0 ± 0,4	0,4	97,0	97,0	100,2	101,2	99,5 ± 2,2	0,4	99,5
50,0	50,5	50,3	50,5	50,5 ± 0,1	0,2	105,1	50,5	50,7	49,7	50,3 ± 0,5	2,6	100,8
10,0	10,0	10,0	10,2	10,1 ± 0,1	1,0	100,9	10,1	10,7	10,7	10,5 ± 0,4	4,2	100,6

Tabela 5.11. Precisão e exatidão intra e interdia das soluções em metanol de BZF-3, AVO e MCO padrões de referência para a metodologia de UHPLC/MS/MS

Filtros C_T (ng mL^{-1})	**Intradia**						**Interdias**					
BZF-3	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**
100,0	100,5	97,8	102,0	100,5 ± 2,1	4,7	100,1	103,6	96,1	100,9	100,2 ± 3,8	7,5	100,2
50,0	51,9	50,6	49,8	51,9 ± 1,1	3,1	100,5	49,9	47,0	49,4	48,8 ± 1,5	6,2	97,5
10,0	10,3	11,3	10,1	10,6 ± 0,4	0,6	105,6	9,0	9,7	9,9	9,5 ± 0,5	5,8	95,4
AVO	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**
100,0	99,1	97,3	100,6	99,0 ± 0,6	1,1	110,6	100,2	105,1	99,3	101,5 ± 3,1	6,7	101,5
50,0	49,8	48,8	50,2	50,2 ± 0,7	2,3	99,3	49,0	49,7	48,5	49,1 ± 0,6	8,8	98,1
10,0	11,7	11,1	10,5	10,2 ± 1,5	2,9	99,0	11,7	10,4	9,9	10,3 ± 0,4	11,7	103,4
MCO	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**	**C_1**	**C_2**	**C_3**	**$C_{média}$ ± dp**	**DPR (%)**	**E (%)**
100,0	103,0	98,7	98,1	99,9 ± 2,7	2,2	99,9	9,4	10,0	10,2	101,6 ± 2,2	3,3	101,6
50,0	43,9	50,7	51,2	48,6 ± 4,1	5,6	97,2	49,2	51,1	48,6	49,6 ± 1,3	4,3	99,3
10,0	11,6	8,8	10,3	10,2 ± 1,4	4,1	102,4	100,9	104,0	99,9	9,9 ± 0,4	6,1	99,0

Legenda. Filtros C_T : concentração teórica das diluições dos filtros solares (ng mL^{-1}); C1 a C3: réplicas das concentrações calculadas (ng mL^{-1}) a partir dos resultados experimentais; $C_{média}$ ± dp: média ± desvio padrão das concentrações calculadas dos filtros solares (ng mL^{-1}) ; DPR (%): precisão calculada como desvio padrão relativo (%); E (%): exatidão (%); (n = 3).

5.10 Recuperação dos filtros solares a partir da pele pelo método UHPLC/MS/MS

O teste de recuperação foi realizado com o intuito de validar o processo de extração dos filtros solares da pele, ademais verificar a capacidade extratora da acetonitrila. De acordo com a **Tabela 5.12**, observou-se valores entre 97,7 e 107,6% para a recuperação dos filtros solares nas amostras de pele, constatando-se que o processo de extração de BZF-3, AVO e MCO da pele total foi eficiente no intervalo de linearidade (10,0 a 50,0 ng mL^{-1}) . A recuperação dos filtros foi realizada com valores de desvio padrão que estão dentro do limite aceito para a validação de métodos envolvendo processos extrativos (±15%) (CAUSON, 1997). Esses resultados podem ser corroborados com aqueles descritos por Klimová e colaboradores (2015), que obtiverarm valores de recuperação destes três compostos entre 87,2 a 106,0%. No entanto, estes pesquisadores quantificaram o processo de extração dos filtros solares por CLAE, obtivendo uma sensibilidade menor (µg mL^{-1}) ao encontrada neste trabalho (KLIMOVÁ; HOJEROVÁ; BERÁNKOVÁ, 2015).

Tabela 5.12 Validação dos filtros solares a partir da extração total da pele de porco.

C_A (ng mL^{-1})	$C_{Média}$ recuperada (Média± dp ng mL^{-1})	Recuperação (%)
BZF-3		
10	9,8 ± 0,8	97,7
50	53,0 ± 16,1	106,1
100	98,0 ± 11,4	98,2
MCO		
10	10,0 ± 8,2	99,6
50	53,8 ± 10,5	107,6
100	99,2 ± 1,3	100,8
AVO		
10	9,9 ± 3,5	99,2
50	47,6 ± 8,1	95,3
100	92,0 ± 14,5	99,2

Legenda: C_A = concentração aplicada; $C_{Média}$ **recuperada =** concentração média recuperada; dp = desvio padrão; (n =3).

5.11 Adição das amostras encapsuladas/incorporadas na SBA-15 em solvente cosmético (C_{12}-C_{15} benzoato de alquila)

A eficácia fotoprotetora depende, entre outros fatores, da correta solubilização dos filtros solares em veículos adequados a este fim. Considerando as características físico químicas dos filtros empregados, é permitido classificá-los como sólidos cristalinos e líquido (MCO) solúveis em óleo. Desta forma, decidiu-se selecionar emolientes para veicular estes compostos isolados e encapsulados/incorporados na SBA-15. Foi selecionado um ingrediente cosmético amplamente utilizado em formulações fotoprotetoras denominado C_{12}-C_{15} benzoato de alquila (TANNER, 2006).

A primeira etapa deste trabalho envolveu a síntese da SBA-15, a encapsulação/incorporação dos filtros e a caracterização destes materiais. No entanto, para facilitar a aplicação dos filtros isolados, filtros encapsulados/ incorporados/SBA-15, misturas físicas/SBA-15 e SBA-15 pura no substrato (placa de PMMA), utilizado para avaliar a eficácia fotoprotetora *in vitro*, foi necessário adicionar em um emoliente empregado em formulações fotoprotetoras, como o C_{12}-C_{15} benzoato de alquila. Após a adição do emoliente aos materiais contendo a SBA-15, foram obtidos produtos na forma de uma dispersão.

5.12 Preparos das formulações fotoprotetoras na forma de bastão

No presente trabalho, avaliou-se a associação dos filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-5 com sistemas de filtros químicos AVO (SBA-15/AVO -1:1), como filtro UVA, BZF-3 (SBA-15/BZF-3- 1:2), como filtro UVA II/UVB e MCO (SBA-15/MCO – 2:1), como filtro UVB, em relação a eficácia funcional das formulações fotoprotetoras. A **Figura 5.32** ilustra as caracteristicas macroscópicas (aspecto e cor) das formulações moldadas na forma de bastão fotoprotetor. Todas as formulações, apresentaram-se macroscopicamente

estáveis e características organolépticas (aspecto, cor e odor) adequadas, segundo o formulador.

F1 F2 F3 F4 F5

Figura 5.32 Características organolépticas e físicas das formulações fotoprotetoras moldadas na forma de bastão. **F1=** formulação base (sem adição de ativos); **F2=** base associado a SBA-15; **F3 =** base contendo os filtros solares (AVO, BZF-3 e MCO); **F4=** filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15; **F5=** combinação de filtros solares e SBA-15 (mistura física) na base. (**Fonte:** autoria própria).

5.13 Quantificação dos filtros solares nas formulações moldadas na forma de bastão fotoprotetor por CLAE/UV

A **Tabela 5.13** descreve os dados experimentais referentes às concentrações em porcentagem e recuperação dos filtros solares a partir das formulações fotoprotetoras. De acordo com resultados encontrados, observou-se que as concentrações experimentais de BZF-3, MCO e AVO foram de: 3,9; 4,5; e 3,3%, respectivamente para formulação **F3**. Para a formulação **F4,** as concentrações experimentais foram muito similares em relação a formulação **F3**, no entanto, para o MCO a concentração foi de 6,2%, ou seja, a referida concentração foi mais elevada do que a concentração teórica (5,0%). Em relação aos resultados de recuperação dos filtros solares, observou-se que os valores foram entre 89,1 e 97,3% para BZF-3; 89,5 e 122,5% para MCO; e 91,4 e 109,9% para AVO. Salvador e colaboradores (2003) utilizaram a técnica de CLAE/UV para quatificação de AVO, BZF-3, MCO e octil dimetil PABA, em formulação moldada. Os autores avaliaram oito formulações comerciais e duas

formulações elaboradas *in house*, e os resultados foram satisfatórios para a quantificação dos filtros solares nestas formulações (SALVADOR; DE LA OSSA; CHISVERT, 2003).

Tabela 5.13. Dados da concentração teórica e recuperação dos filtros solares a partir das formulações fotoprotetoras

	C_T filtros solares (%)			**C_E filtros solares $_{média}$ ± dp (%)**			**Recuperação (%)**		
	BZF-3	**MCO**	**AVO**	**BZF-3**	**MCO**	**AVO**	**BZF-3**	**MCO**	**AVO**
F3	4,0	5,0	3,0	3,9 ± 0,1	4,5 ± 0,1	3,3 ± 0,2	97,3	89,5	109,9
F4				3,5 ± 0,1	6,2 ± 0,2	2,7 ± 0,3	89,1	122,5	91,4

Legenda: C_T filtros solares: concentração teórica dos filtros dos filtros solares ; C_E filtros solares = concentração experimental dos filtros solares; $_{média}$ ± dp: média ± desvio padrão das concentrações calculadas dos filtros solares (%); (n = 3).

5.14 Eficácia fotoprotetora *in vitro* dos filtros solares combinados em solvente cosmético

A eficácia fotoprotetora *in vitro* das amostras foi determinada por meio da espectrofotometria de refletância difusa com esfera de integração. O tratamento dos dados de transmitância na faixa do UVA e UVB foi realizado pelo programa computacional acoplado ao equipamento (UV® 2000), responsável por converter os valores de transmitância em resultados estimados de FPS e comprimento de onda crítico (nm). Nas **Tabelas 5.14** a **5.17** estão listados os dados de eficácia fotoprotetora *in vitro.* A **Figura 5.33 (A, B e C)** ilustra as curvas de absorbância das amostras de filtros solares encapsulados/*incorporados* na sílica SBA-15, de filtro solares isolados e as de suas respectivas misturas físicas (filtros solares/SBA-15).

As amostras de MCO encapsuladas/incorporados na SBA-15 e a mistura física apresentaram maiores valores de FPS *in vitro* do que a amostra de MCO (**Tabela 5.14**). No entanto, o tratamento estatístico realizado apontou que a amostra SBA-15/MCO (2:1) não apresentou diferença significativa no valor de FPS, em relação à amostra da mistura física.

Tabela 5.14 Valores de FPS e comprimento de onda crítico *in vitro* das amostras de MCO encapsuladas/incorporados na sílica SBA-15, não encapsulada e a mistura física (MCO/SBA-15).

Amostras *(Composição)*	**FPS**	**λc (nm)**
C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila	1,0± 1,0 ^{D}	N.A
SBA-15	1,0 ± 1,0 ^{D}	N.A
MCO	6,6 ± 1,5 ^{C}	324,3 ± 1,5 ^{B}
SBA-15/MCO (1:1)	11,3 ± 1,5 ^{B}	324,3 ± 1,7 ^{AB}
SBA-15/MCO (2:1)	16,3 ± 1,5 ^{A}	328,3 ± 1,3 ^{A}
Mistura física (SBA-15/MCO)	13,0 ± 1,0 ^{AB}	326,0 ± 1,0 ^{AB}

Legenda: N.A. = não aplicável; **FPS =** Fator de Proteção Solar Estimado; **λc =** Comprimento de onda crítico. Resultados de eficácia fotoprotetora expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste estatístico ANOVA *One-Way*, seguido de teste de Tukey para comparação entre os grupos (nível de significância = 0.05); (n=3).

No caso das amostras de BZF-3 encapsuladas/incorporadas na SBA-15, observou-se que a amostra SBA-15/BZF-3 (1:2) apresentou o maior valor de FPS (**Tabela 5.15**). A mistura física (SBA-15/BZF-3), o material encapsulado a 12,8% e a amostra SBA-15/BZF-3 (1:1), apresentaram valores de FPS maiores em relação ao composto isolado. No entanto, este aumento não foi significativamente relevante em comparação à BZF-3.

Tabela 5.15 Valores de FPS e comprimento de onda crítico *in vitro* das amostras de BZF-3 encapsuladas/incorporadas na sílica SBA-15, não encapsulada e a mistura física (BZF-3/SBA-15).

Amostras *(Composição)*	**FPS**	**λc (nm)**
C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila	1,0± 1,0 ^{C}	N.A
SBA-15	1,0± 1,0 ^{C}	N.A
BZF-3	3,6 ± 0,6 ^{B}	347,0 ± 0,6 ^{B}
SBA-15/BZF-3 (1:1)*	4,6 ± 0,6 ^{AB}	350,0 ± 0,0 ^{A}
SBA-15/BZF-3 (1:2)	5,6 ± 0,6 ^{A}	351,0 ± 1,0 ^{A}
SBA-15/BZF-3 (12,8%)	4,3 ± 0,6 ^{AB}	351,3 ± 1,5 ^{A}
Mistura física (SBA-15/BZF-3)	4,0 ± 1,0 ^{AB}	346,6 ± 1,2 ^{B}

Legenda: N.A. = não aplicável; **FPS =** Fator de Proteção Solar Estimado; **λc =** Comprimento de onda crítico. Resultados de eficácia fotoprotetora expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste estatístico ANOVA *One-Way*, seguido de teste de Tukey para comparação entre os grupos (nível de significância = 0.05); (n=3).

Para as amostras de avobenzona encapsuladas/incorporadas na SBA-15 e da mistura física, não foi observado acréscimo nos valores de FPS e comprimento de onda crítico, em comparação à amostra de avobenzona. Isto pode ser constatado a partir dos dados descritos na **Tabela 5.16**.

Tabela 5.16 Valores de FPS e comprimento de onda crítico *in vitro* das amostras de AVO encapsuladas/incorporadas na sílica SBA-15, não encapsulada e a mistura física (AVO/SBA-15) .

Amostras *(Composição)*	**Fator de Proteção Solar estimado**	**λc (nm)**
C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila	1,0 ± 1,0 ^{C}	N.A
SBA-15	1,0± 1,0 ^{C}	N.A
AVO	4,0 ± 1,2 ^{A}	380,0 ± 0,6 ^{A}
SBA-15/AVO (1:1)	2,3 ± 0,6 ^{B}	379,0 ± 0,0 ^{A}
SBA-15/AVO (6%)*	2,7 ± 0,0 ^{B}	381,6 ± 4,0 ^{A}
Mistura física (SBA-15/AVO)	3,3 ± 0,6 $^{A, B}$	379,0 ± 0,6 ^{A}

Legenda: N.A. = não aplicável; **FPS =** Fator de Proteção Solar Estimado; **λc =** Comprimento de onda crítico. Resultados de eficácia fotoprotetora expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste estatístico ANOVA *One-Way*, seguido de teste de Tukey para comparação entre os grupos (nível de significância = 0.05); (n=3).

Com o intuito de avaliar o efeito sinérgico entre os filtros solares encapsulados na SBA-15, combinaram-se os materiais encapsulados/ incorporadas que apresentaram os maiores valores de FPS (**Figura 5.34**), excluindo a utilização das outras amostras (misturas físicas dos filtros, SBA-15/AVO a 6% e SBA-15/BZF-3 a 12,8%). Sendo assim, foram realizadas três tipos de combinações a saber: **1)** C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila + SBA-15/BZF-3 (1:2)/SBA-15/MCO (2:1); **2)** C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila + SBA-15/BZF-3 (1:2)/SBA-15/MCO (1:1) e **3)** C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila + SBA-15/BZF-3 (1:2)/SBA-15/MCO (2:1)/ SBA-15/AVO (1:1).

Constatou-se que a combinação das amostras encapsuladas/ incorporadas apresentaram acréscimos de absorbância relevantes em relação às amostras não encapsulada/incorporada (**Figura 5.34**), porém, este aumento foi

observado apenas na região do UVB (290 a 320 nm). Este fato foi evidenciado pelos valores estimados de FPS, o que resultou em acréscimos de até 65% (SBA-15/MCO- 2:1/BZF-1:2) em relação à amostra MCO/BZF-3.

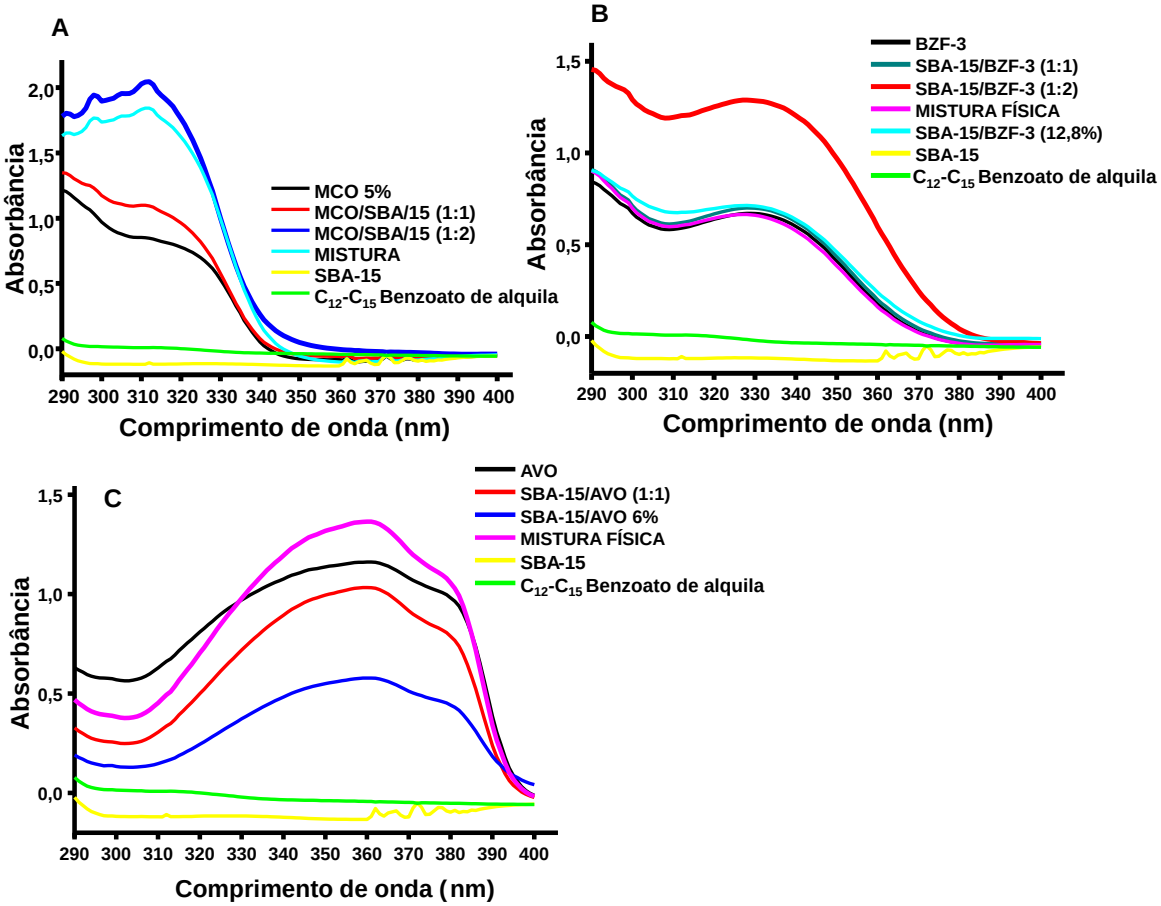


Figura 5.33 Curvas de absorbância das amostras de filtros solares encapsuladas na sílica SBA-15, filtro solares isolados e as suas respectivas misturas físicas (filtros solares/SBA-15), mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA); (n=3).

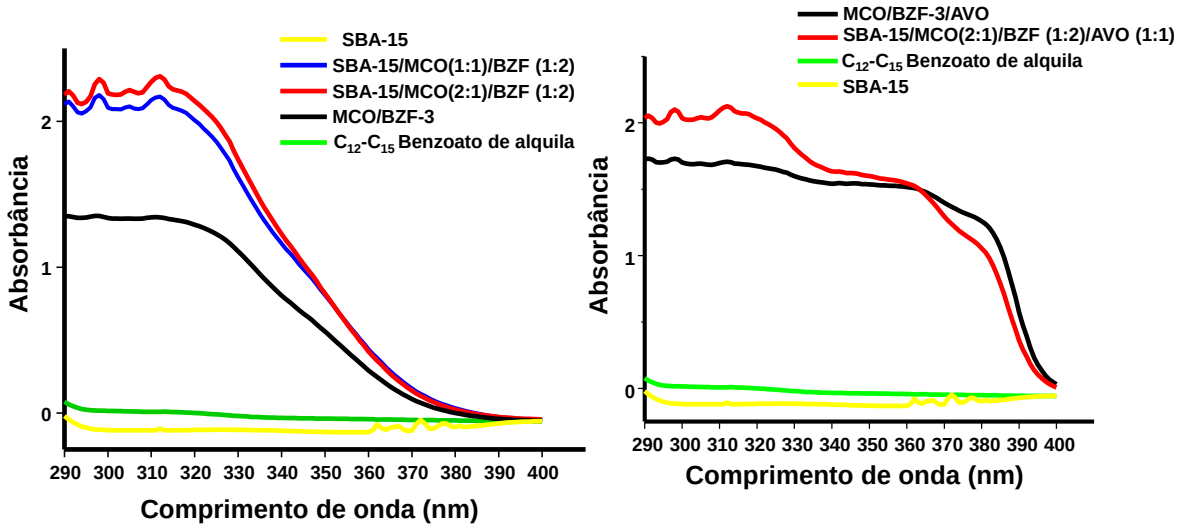


Figura 5.34 Curvas de absorbância das amostras de filtros solares encapsulados/incorporados na sílica SBA-15 e filtros solares isolados, mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA); (n=3).

Conforme a **Tabela 5.17**, foi observado que a combinação das amostras SBA-15/MCO (2:1) e SBA-15/BZF-3 (1:2) deteve valor estimado de FPS superior em relação às combinações entre SBA-15/MCO(1:1) e SBA-15/BZF-3 (1:2) e ,desta forma, para o desenvolvimento da formulação fotoprotetora, decidiu-se utilizar a combinação das amostras SBA-15/MCO (2:1) e SBA-15/BZF-3 (1:2).

Tabela 5.17 Valores de FPS e comprimento de onda crítico *in vitro* das amostras de filtros solares encapsuladas/incorporadas na sílica SBA-15 e filtros solares isolados.

Amostras ***(Composição)***	**FPS**	**λc (nm)**
C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila	1,0± 1,0^{D}	N.A
SBA-15	1,0± 1,0^{D}	N.A
MCO/BZF-3	17,0± 0,6 ^{C}	347,6± 0,6^{C}
MCO/BZF-3/AVO	48,0± 2,0^{B}	377,3± 0,6^{A}
SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)	49,0± 3,0^{B}	347,0± 0,0^{C}
SBA-15/MCO(1:1)/BZF (1:2)	47,0± 1,0^{B}	3470± 0,6^{C}
SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1)	92,5± 5,0^{A}	373,3± 0,6^{B}

Legenda: N.A. = não aplicável; **FPS =** Fator de Proteção Solar Estimado; **λc =** Comprimento de onda crítico. Resultados de eficácia fotoprotetora expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste estatístico ANOVA *One-Way*, seguido de teste de Tukey para comparação entre os grupos (nível de significância = 0.05); (n=3).

A respeito da combinação de AVO, BZF-3 e OMC observou-se que tanto as amostras encapsuladas/incorporadas na SBA-15 quanto as não encapsuladas/incorporadas apresentaram expressivo aumento nos valores de FPS em relação à combinação de OMC e BZF-3 (**Tabela 5.17**). Ademais, observou-se que a associação dos três filtros solares promoveu aumento nos valores de comprimento de onda crítico, devido à adição da AVO, como filtro solar UVA.

No entanto, avaliando-se comparativamente as curvas de absorbância (**Figura 5.34**) das amostras SBA-15/MCO (2:1) /BZF-3 (1:2) e SBA-15/MCO (2:1) /BZF-3 (1:2)/AVO (1:1), observou-se que ambas as amostras apresentaram intensidades de absorbância similares e que o aumento no valor de FPS da amostra contendo os três filtros não foi atribuído à adição de avobenzona, mas pelas limitações da técnica *in vitro* para o cálculo de FPS. Apesar desta limitação, ressalta-se a importância das análises *in vitro* como método de triagem na pesquisa e desenvolvimento de formulações fotoprotetoras, representando modo rápido, seguro e de baixo custo para reduzir o número de experimentos *in vivo*,

minimizando a exposição de voluntários à radiação UV (AKRMAN *et al.*, 2009; BENDOVÁ *et al.*, 2007).

Os resultados comprovaram que o material mesoporoso contribuiu no aumento da eficácia fotoprotetora, principalmente, com a combinação de filtros encapsulados/incorporados. Visto que a SBA-15 possuiu valor de FPS próximo de 1 (**Tabela 5.17**), pode-se inferir que mecanismo do aumento da fotoproteção não ocorreu por meio de reflexão e ou absorção dos raios UV. Apesar da SBA-15 ser um composto químico inorgânico, este material apresenta índice de refração inferior, quando comparado aos filtros inorgânicos, como o dióxido de titânio. Estudos realizados por Goscianska e colaboradores (2015) determinaram o índice de refração da SBA-15, igual a 1,46. Segundo a literatura, o dióxido de titâneo apresenta índice de refração entre 2,6 a 4,0. O efeito esbranquiçado e o poder de cobertura proporcionada pelo dióxido de titânio são devido ao seu alto índice de refração, elevando as propriedades refletoras da radiação UV (GOSCIANSKA *et al.*, 2015; KIM, 1996; SMIJS; PAVEL, 2011).

Diversos estudos na literatura relatam que o processo de encapsulação de filtros solares promove aumento da eficácia fotoprotetora. Ambrogi e colaboradores (2013a/b) encapsularam a BZF-3 e MCO em material mesoporoso do tipo MCM-41, a fim de evitar a permeação cutânea e aumentar a fotoestabilidade destes compostos. Os autores constataram aumento nos valores de absorbância dos compostos encapsulados em relação aos filtros não encapsulados. No entanto, estes pesquisadores não avaliaram os valores de FPS estimado. Gilbert e colaboradores (2016) obtiveram significativo aumento no valor de FPS após o processo de encapsulação de BZF-3 em nano partículas e nanocápsulas lipídicas (AMBROGI *et al.*, 2013a, 2013b; LI *et al.*, 2015).

Em relação à SBA-15 e C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila, o resultado do comprimento de onda crítico não pode ser considerado, devido à proximidade de sua curva de absorbância da linha de base (**Figura 5.34**), fator que impediu a correta transformação dos dados pelo programa acoplado ao espectrofotômetro de refletância difusa. Avaliando-se a curva de absorção do C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila, percebeu-se que este não interferiu na absorbância UVA ou UVB das amostras,

resultado que permitiu a atribuição da eficácia fotoprotetora da combinação dos filtros solares com o material mesoporoso.

5.15 Fotoestabilidade dos filtros combinados em solvente cosmético

A fotoestabilidade das amostras foi determinada por meio da comparação entre os resultados da caracterização funcional *in vitro* obtidos antes e após a irradiação das amostras em câmara de fotoestabilidade. Os resultados estão listados nas **Tabelas 5.18 a 5.21** enquanto as **Figuras 5.35** e **5.36** ilustram as curvas de absorbância das amostras pré e pós-irradiação.

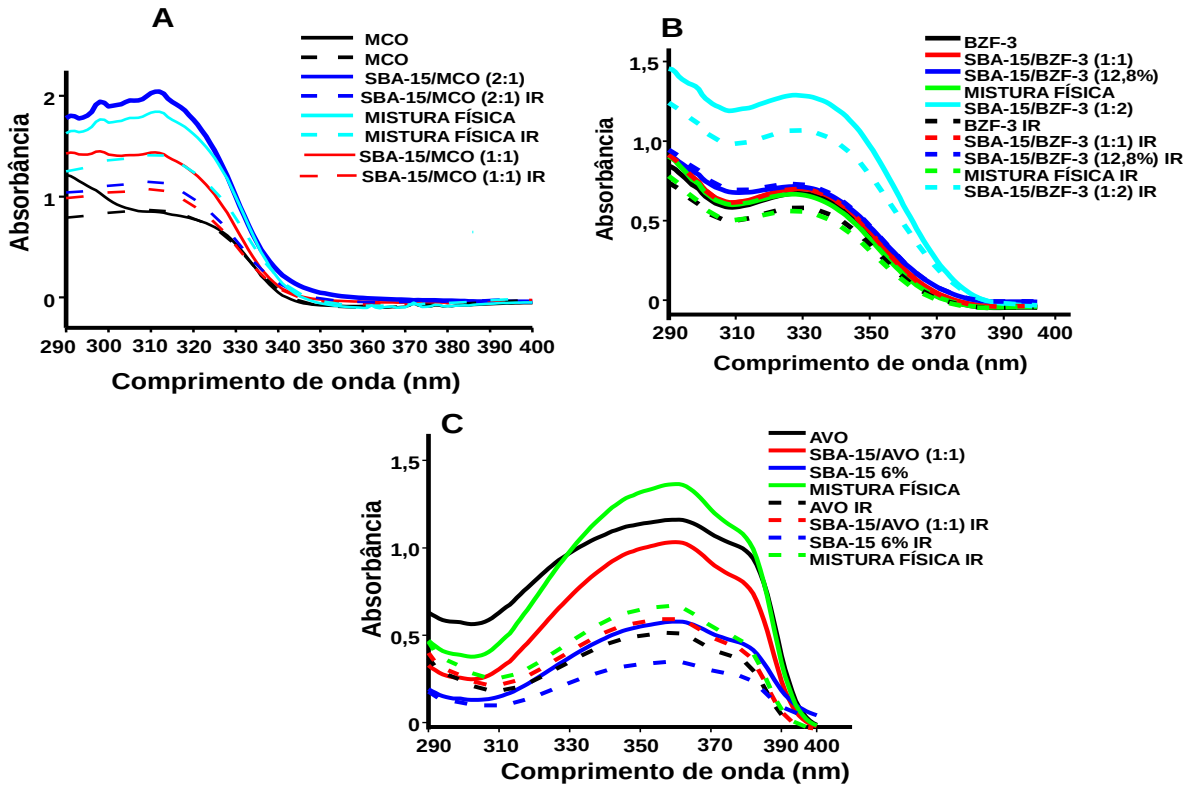


Figura 5.35 Curvas de absorbância das amostras de filtros solares encapsulados/incorporados na sílica SBA-15, filtro solares isolados e as suas respectivas misturas físicas (filtros solares/SBA-15), mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA), antes e após a irradiação; (n=3).

Tabela 5.18. Fotoestabilidade funcional das amostras de MCO, MCO encapsulados/incorporados na SBA-15 e as misturas físicas antes e após irradiação UV artificial

Amostra	Irradiação	FPS	% de decaimento do FPS	Valor de *p*	λc (nm)	Valor de *p*
MCO	**NI** **IR**	6,6 ± 1,5 5,0 ± 1,0	24,0	**0,038**	324,3 ± 1,5 324,0 ± 2,0	0,423
SBA-15/MCO (1:1)	**NI** **IR**	11,3 ± 1,5 6,3 ± 0,6	44,0	**0,049**	324,3 ± 1,7 324,3 ± 1,2	0,691
SBA-15/MCO (2:1)	**NI** **IR**	16,3 ± 1,5 8,6 ± 1,5	47,0	**0,003**	328,3 ± 1,3 326,3 ± 3,5	0,225
Mistura física (SBA-15/MCO)	**NI** **IR**	13,0 ± 1,0 10,3 ± 0,6	23,0	**0,015**	326,0 ± 1,0 326,3 ± 0,6	0,423

Legenda: NI = amostra pré-irradiação; **IR =** amostra pós-irradiação; **N.A. =** não aplicável. Resultados expressos como média ± desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ (em negrito) representam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras irradiadas e não irradiadas. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student pareado (nível de significância = 0,05); (n=3).

Tabela 5.19. Fotoestabilidade funcional das amostras de BZF-3, BZF-3 encapsulados/incorporados na SBA-15 e as misturas físicas antes e após irradiação UV artificial

Amostra	Irradiação	FPS	% de decaimento do FPS	Valor de *p*	λc (nm)	Valor de *p*
BZF-3	**NI** **IR**	3,6 ± 0,6 3,3 ± 0,6	-	0,667	347,0 ± 0,6 346,3 ± 0,6	0,225
SBA-15/BZF-3 (1:1)	**NI** **IR**	4,6 ± 0,6 4,0 ± 0,0	-	0,184	350,0 ± 0,0 349,7 ± 0,6	0,423
SBA-15/BZF-3 (1:2)	**NI** **IR**	5,6 ± 0,6 4,6 ± 0,6	18,0	**0,038**	351,0 ± 1,0 351,3 ± 1,5	0,742
SBA-15/BZF-3 (12,8%)	**NI** **IR**	4,3 ± 0,6 3,3 ± 0,6	-	0,184	351,3 ± 1,5 346,3 ± 0,6	**0,038**
Mistura física (SBA-15/BZF-3)	**NI** **IR**	4,0 ± 1,0 4,0 ± 0,0	-	1,000	346,6 ± 1,2 347,6 ± 1,5	0,580

Legenda: NI = amostra pré-irradiação; **IR =** amostra pós-irradiação; **N.A. =** não aplicável. Resultados expressos como média ± desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ (em negrito) representam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras irradiadas e não irradiadas. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student pareado (nível de significância = 0,05); (n=3).

Tabela 5.20. Fotoestabilidade funcional das amostras de AVO, AVO encapsulados/incorporados na SBA-15 e as misturas físicas antes e após irradiação UV artificial.

Amostra	Irradiação	FPS	Valor de *p*	λc (nm)	Valor de *p*
AVO	**NI** **IR**	3,5 ± 1,2 1,3 ± 0,6	**0,015**	380,0 ± 0,6 376,0 ± 0,0	**0,008**
SBA-15/AVO (1:1)	**NI** **IR**	2,3 ± 0,6 2,0 ± 0,0	0,423	379,0 ± 0,0 377,0 ± 0,6	**0,038**
SBA-15/AVO (6%)	**NI** **IR**	3,0 ± 0,0 2,0 ± 0,0	**0,038**	381,6 ± 4,0 379,0 ± 5,7	**0,038**
Mistura física (SBA-15/AVO)	**NI** **IR**	3,3 ± 0,6 2,0 ± 0,0	0,057	379,0 ± 0,6 377,0 ± 0,6	**0,024**

Legenda: NI = amostra pré-irradiação; **IR =** amostra pós-irradiação; **N.A. =** não aplicável. Resultados expressos como média ± desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ (em negrito) representam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras irradiadas e não irradiadas. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student pareado (nível de significância = 0,05); (n=3).

Tabela 5.21. Fotoestabilidade funcional das amostras de MCO/BZF-3, MCO/BZF-3/AVO, SBA-15/MCO (2:1) /BZF (1:2), SBA-15/MCO (1:1)/BZF (1:2) e SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1) antes e após irradiação UV artificial

Amostras	Irradiação	FPS	Valor de *p*	% de decaimento do FPS	λc (nm)	Valor de *p*
MCO/BZF-3	**NI** **IR**	17,0± 0,6 12,6 ± 2,3	**0,009**	26,0	347,6± 0,6 347,6± 0,6	1,000
MCO/BZF-3/AVO	**NI** **IR**	48,0 ± 2,0 34,0 ± 3,0	**0,012**	29,0	377,3 ± 0,6 376,3 ± 0,6	0,225
SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)	**NI** **IR**	49,0± 3,0 46,5± 2,5	**0,013**	5,0	347,0± 0,0 347,6± 0,6	0,184
SBA-15/MCO(1:1)/BZF (1:2)	**NI** **IR**	47,0± 1,0 39,3±0,6	**0,002**	16,3	347,0± 0,6 348,6± 0,6	0,184
SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1)	**NI** **IR**	98,6 ± 15,1 51,6 ± 11,5	**0,003**	47,5	373,3 ± 0,6 370,6 ± 1,2	**0,015**

Legenda: NI = amostra pré-irradiação; **IR =** amostra pós-irradiação; **N.A. =** não aplicável. Resultados expressos como média ± desvio padrão. Valores de $p < 0,05$ (em negrito) representam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras irradiadas e não irradiadas. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student pareado (nível de significância = 0,05); (n=3).

De acordo com os resultados das **Tabelas 5.18 a 5.21** e das **Figuras 5.35** e **5.36,** verificou-se que as amostras encapsuladas/incorporadas e misturas físicas na SBA-15 não apresentaram aumento da fotoestabilidade em relação aos filtros solares isolados, já que a etapa de irradiação causou redução nos valores de FPS. Estes resultados corroboraram aos dados da literatura, visto que Puglia e colaboradores (2014) incorporaram a avobenzona e o p-metoxicinamato de octila em nanoestruturas lipídicas, e após o processo de irradiação houve diminuição da fotoestabilidade destes compostos presentes nesta matriz lipídica.

No entanto, para as amostras de BZF-3 e mistura física entre BZF-3/SBA-15, materiais encapsulados na sílica na proporção 1:1 e a 12,8%, apresentaram-se fotoestáveis, pois a influência da irradiação não promoveu diferença no valor de FPS *in vitro* destas amostras (valor de $p > 0,05$). Este fato era esperado, visto que a BZF-3 é considerado um filtro solar fotoestável (ABID *et al.*, 2017). No entanto, constatou-se que a amostra SBA-15/BZF-3 (1:2) teve uma redução de 18,0% no valor de FPS após o processo de irradiação (**Tabela 5.19**).

Com relação ao comprimento de onda crítico, a amostra de avobenzona, e as amostras encapsuladas/incorporadas, mistura física e a combinação dos três filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 apresentaram diminuição após a etapa de irradiação (valor de $p < 0,05$). Para as outras amostras, foram observados aumentos após a etapa de irradiação. Este fato é comprovado pelas **Figuras 5.35** e **5.36**, nas quais as curvas de absorbância apresentaram deslocamento do comprimento de onda UVA destes compostos.

O perfil adjuvante da SBA-15 no aumento da fotoproteção o classificou como um material promissor para utilização em formulações fotoprotetoras. Dessa forma, decidiu-se associar os filtros encapsulados/incorporados com a finalidade de obter uma formulação fotoprotetora de amplo espectro e, sendo assim, resultou na associação das seguintes amostras para a elaboração de bastões fotoprotetores: SBA-15/MCO (2:1), SBA-15/BZF-3 (1:2) e SBA-15/AVO (1:1). As formulações preparadas foram submetidas a avaliação da atividade fotoprotetora e da fotoestabilidade *in vitro*.

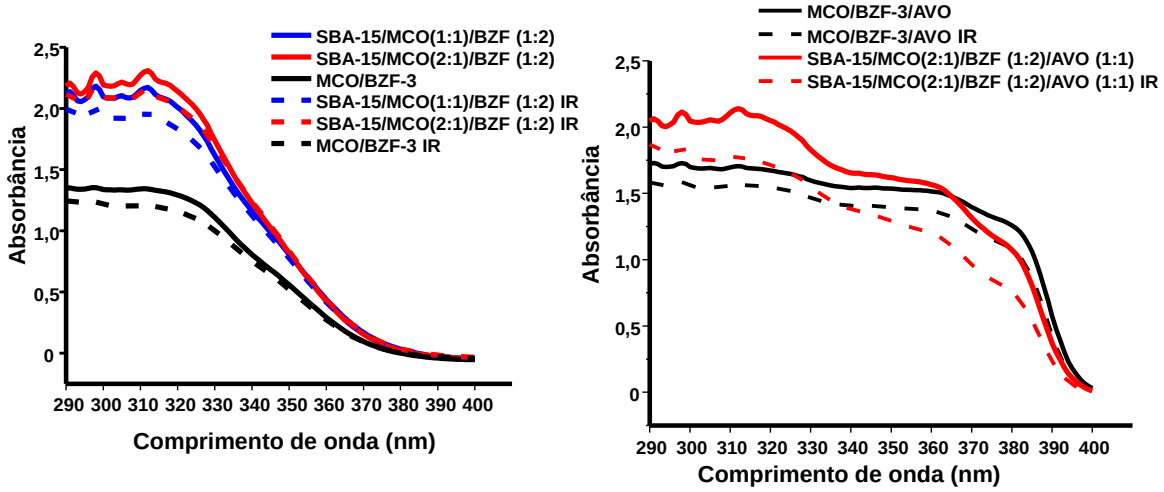


Figura 5.36 Curvas de absorbância das amostras de filtros solares encapsulados/incorporados na sílica SBA-15 e filtro solares não encapsulados/incorporados na SBA-15, mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA), antes e após a irradiação; (n=3).

5.16 Avaliação *in vitro* da eficácia fotoprotetora *e* fotoestabilidade das formulações fotoprotetoras na forma de bastão

Os resultados de FPS e comprimento de onda crítico das formulações, antes e após a irradiação, estão descritas nas **Tabelas 5.22** e **5.23,** enquanto as **Figuras 5.37** e **5.38** ilustram as curvas de absorbância das referidas amostras.

Todas as formulações foram consideradas de amplo espectro, por possuírem valores de FPS acima de 15 e λc acima de 370 nm. Observou-se que a formulação contendo os filtros encapsulados/incorporados em SBA-15 apresentou o maior valor de FPS em comparação as formulações **F3** e **F5**. Em relação ao λc, constatou-se que todas as formulações obtiveram valores próximos, provavelmente, referente ao perfil espectral da avobenzona, que possui atividade fotoprotetora na região do UVA (DE OLIVEIRA *et al.*, 2016).

Tabela 5.22 Valores de FPS e comprimento de onda crítico *in vitro* das formulações fotoprotetoras.

Formulações	FPS	λc (nm)
F1	1,3 ± 0,6 [C]	N.A
F2	4,3 ± 1,6 [C]	N.A
F3	94,3 ± 5,5 [B]	374,6 ± 0,6 [A]
F4	179,3 ± 6,5 [A]	375,0 ± 1,0 [A]
F5	98,3 ± 5,5 [B]	374,0 ± 0,0 [A]

Legenda: N.A. = não aplicável; **FPS =** Fator de Proteção Solar Estimado; **λc =** Comprimento de onda crítico. Resultados de eficácia fotoprotetora expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste estatístico ANOVA *One-Way*, seguido de teste de Tukey para comparação entre os grupos (nível de significância = 0.05); (n=3).

Tabela 5.23. Caracterização funcional *in vitro* das formulações antes e após irradiação UV artificial

Formulações	Irradiação	FPS	Valor de *p*	%decaimento do FPS	λc (nm)	Valor de *p*
F3	**NI**	94,3 ± 5,5	**0,036**	34,3	374,6 ± 0,6	**0,057**
	IR	62,0 ± 5,5			373,3 ± 0,6	
F4	**NI**	179,3 ± 6,5	**0,001**	30,5	375,0 ± 1,0	0,184
	IR	124,6 ± 5,5			373,6 ± 0,6	
F5	**NI**	98,3 ± 5,5	**0,000**	41,0	374,0 ± 0,0	**0,050**
	IR	58,0 ± 5,0			372,0 ± 0,0	

Legenda: NI = não irradiado; **IR =** irradiado; **N.A. =** não aplicável. Resultados expressos como média ± desvio padrão. Valores de $p < 0.05$ (em negrito) representam diferenças estatisticamente significativas entre as amostras irradiadas e não irradiadas. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student pareado (nível de significância = 0,05); (n=3).

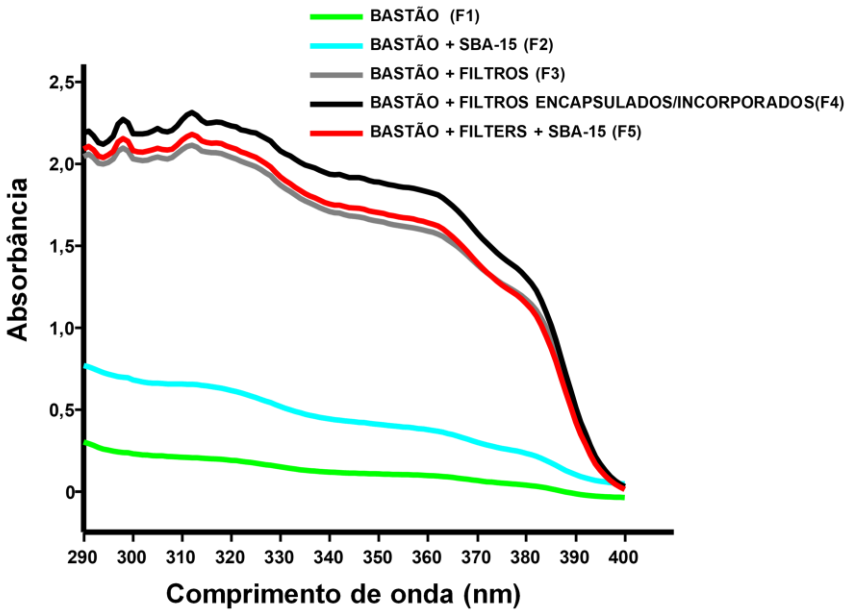


Figura 5.37 Curvas de absorbância das formulações fotoprotetoras na forma de bastão; (n=3).

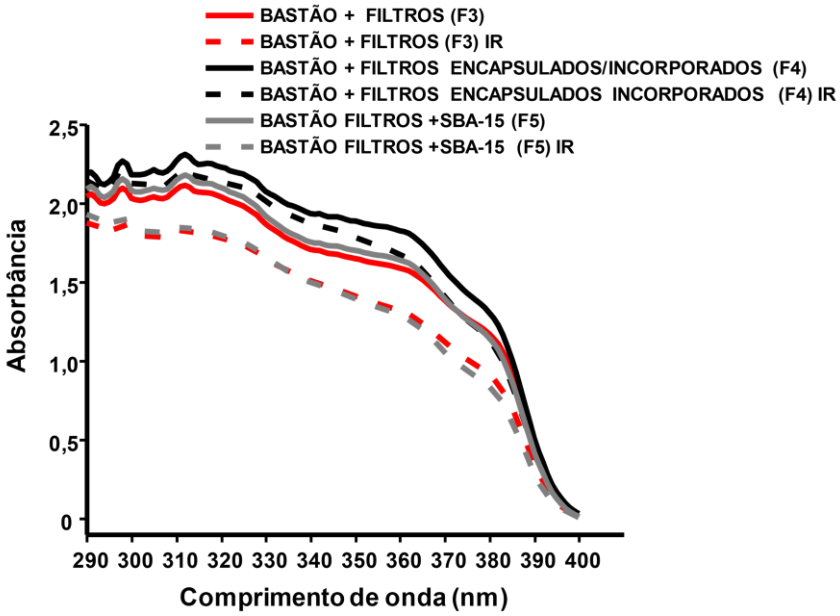


Figura 5.38 Curvas de absorbância das formulações fotoprotetoras na forma de bastão mensuradas entre 290 e 400 nm (UVB e UVA), antes e após a irradiação; (n=3).

Após a irradiação, as formulações apresentaram redução no valor de FPS e no valor do comprimento de onda crítico, porém, não se observou redução deste parâmetro para a formulação **F4**. A respeito do valor de FPS, a formulação **F4** obteve a menor redução, de 98,3 ± 5,5 para 58,0 ± 5,0 no valor de FPS, ou seja, redução de aproximadamente 41,0%.

Filtros orgânicos, como AVO e MCO, absorvem radiação UV protegendo o tecido cutâneo. Este mecanismo torna-os suscetíveis à fotodegradação e diminuição da eficácia fotoprotetora. Uma das estratégias para evitar esta limitação é a encapsulação destes em materiais nanoestruturados. Wu e colaboradores (2014) demonstraram que a encapsulação em poli (metacrilato de metila) (PMMA) de AVO e MCO, aumentou a eficácia fotoprotetora destes compostos. Neste mesmo estudo, observou-se que após o processo de irradiação, os filtros encapsulados apresentaram-se mais fotoestáveis, comparados aos filtros não encapsulados. Os autores constataram que o processo de encapsulação destes compostos em PMMA promoveu aumento da fotoestabilidade e fotoproteção. Em contrapartida, Trotta e colaboradores (2014) não observaram elevação no valor de FPS após a encapsulação da AVO e MCO em micropartículas lipídicas (NIKOLIĆ *et al.*, 2011; TROTTA *et al.*, 2014; WU *et al.*, 2014).

De acordo com o exposto, pode-se sugerir que a SBA-15 aumentou o perfil fotoprotetor *in vitro* dos filtros orgânicos combinados, principalmente no que se refere ao perfil UVB, além de não acarretar o efeito esbranquiçado dos filtros solares inorgânicos como o dióxido de titâneo. Fato que pode ser confirmado por meio do aumento do FPS após a encapsulação/incorporação dos filtros UV na SBA-15. O aumento de aproximadamente 90% do FPS em comparação as formulações **F3** (94,3) e **F5** (98,3) (**Tabela 5.22**) apontou efeito sinérgico entre a SBA-15 e os filtros orgânicos. Este efeito pode estar relacionado aos grupamentos funcionais presentes na superfície e no interior dos poros da SBA-15. Supõe-se que a presença de grupos silánois e hidroxilas presentes no material mesoporoso interajam com grupos cetonas e hidroxilas presentes nas estruturas de filtros orgânicos, por meio de ligações de hidrogênio e forças de *van der Waals*. Sugere-se que estes tipos de interações estabilizem os grupamentos de filtros orgânicos, responsáveis por absorver a radiação UV. Estudos comprovam que estas interações são responsáveis

por aumentar a estabilidade de fármacos na matriz do material mesoporo. Trabalho realizado por Liédana e colaboradores (2013) demonstrou que a estabilidade térmica da cafeína foi aumentada, devido à formação de ligações de hidrogênio entre o grupo carbonila da cafeína e grupos hidroxilas presentes na SBA-15 (EREN *et al.*, 2016; LIÉDANA *et al.*, 2013; LÓPES *et al.*, 2006; NETO *et al.*, 2016). Outra hipótese é de que a permanência de parte dos filtros UV nos mesoporos da SBA-15 contribuiu para elevar a eficácia protetora destes compostos. Este dado pode ser corroborado aos resultados de TG/DTG que indicaram que parte dos filtros solares permanecem dentro dos poros da SBA-15, enquanto que outra parte encontrou-se na superfície deste material (NETO *et al.*, 2016; WU *et al.*, 2014).

Contudo, o ensaio de fotoestabilidade demonstrou que a SBA-15 não foi capaz de reduzir o processo de fotodegração do MCO, houve decréscimo de, aproximadamente, 30,0% do valor de FPS da formulação **F4**. Fato que pode ser atribuído de que parte dos filtros UV estarem na superfície do material mesoporoso, ao invés de estarem protegidos dentro dos poros, e, por conseguinte ficarem expostos a radiação UV, reduzindo a sua fotoestabilidade (KOCKLER *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2014). Apesar destes resultados, constatou-se que após o processo de irradiação, a formulação **F4** apresentou o maior valor de FPS em comparação as demais formulações. Ademais, constatou-se após a irradiação, a formulação **F4** conservou maior comprimento de onda crítico, fator que contribui para manutenção do perfil amplo espectro da formulação.

A avaliação comparativa entre a formulação **F4** e amostra C_{12}-C_{15} benzoato de alquila+SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1) (FPS = 124,6) demonstrou que as amostras encapsuladas, adicionados na formulação de bastão, apresentou acréscimo de, aproximadamente, 94,0% (**Tabela 5.24**) em comparação as mesmas amostras adicionadas ao C_{12}-C_{15} benzoato de alquila.

Após a irradiação, o comprimento de onda crítico da formulação de bastão manteve-se inalterado. Contudo, a amostra C_{12}-C_{15} Benzoato de alquila+SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1) apresentou uma expressiva diminuição deste parâmetro.

O aumento da eficácia fotoprotetora da formulação está associado à grande quantidade de matérias-primas de carácter graxo, em especial ceras, presentes

nesta formulação. Sabe-se que ceras promovem melhor aderência ao produto quando aplicado na pele, formando um filme protetor, requisito importante para aumentar eficácia fotoprotera (VILLALOBOS-HERNÁNDEZ; MÜLLER-GOYMANN, 2006, 2007). Este pode ser comprovado pelo estudo realizado por Nikolíc e colaboradores (2011), no qual a encapsulação de MCO, *ethylhexyl triazona* e Tinosorb® S (*bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine*) em nanoestruturas lipídicas à base de cera de carnaúba, obtiveram aumento de 45,0% no valor de FPS em comparação a uma nanoemulsão convencional ou nanoestrutura lipídica à base de cera de abelhas. Os autores sugeriram que a cera de carnaúba interagiu com a matriz lipídica do carreador, e esta interação promoveu formação de partículas em forma de cristais, com propriedades refletoras da radiação UV, e, consequentemente, elevando o FPS da formulação (NIKOLIĆ *et al.*, 2011).

Tabela 5.24 Comparativo entre a formulação F4 e amostra SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1) em relação a valores de FPS e comprimento de onda crítico *in vitro* antes e após o processo de irradiação.

Pré-irradiação		
Formulações	**FPS**	**λc (nm)**
F4	179,3 ± 6,5 ^{A}	375,0 ± 1,0 ^{A}
SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1)	92,5± 5,0 ^{B}	373,3 ± 0,6 ^{A}
Pós-irradiação		
Formulações	**FPS**	**λc (nm)**
F4	124,6 ± 5,5 ^{A}	373,6 ± 0,6 ^{A}
SBA-15/MCO(2:1)/BZF (1:2)/AVO (1:1)	51,6 ± 11,5 ^{B}	370,6 ± 1,2 ^{B}

Legenda: N.A = não aplicável; .**FPS =** Fator de Proteção Solar Estimado; **λc =** Comprimento de onda crítico. Resultados de eficácia fotoprotetora expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Os resultados foram avaliados de acordo com o teste estatístico ANOVA *One-Way*, seguido de teste de Tukey para comparação entre os grupos (nível de significância = 0,05); (n=3).

5.17 Avaliação do potencial de irritação ocular por método *in vitro* HET-CAM - *Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane*

O método *in vitro* de HET-CAM foi utilizado para avaliar o potencial irritante das formulações contendo SBA-15 (**F2**) e filtros solares encapsulados/incorporados na mesma (**F4**). Para a realização deste método, foi necessário diluir as formulações, pois para formulações sólidas, assim como para formulações que apresentem turbidez, estas devem ser dissolvidas em um solvente não irritante, até que a concentração da amostra apresente o máximo de transparência possível (STEILING *et al.*, 1999). Sendo assim, para dissolver e diluir as formulações foi selecionado triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico, por ser um solvente não irritante e de polaridade compatível com as formulações (LEITE-SILVA *et al.*, 2016).

Este método foi selecionado por ser considerado de baixo custo, facilidade de aplicação e sensível para prever o efeito irritante ocular de produtos químicos (ABDELKADER *et al.*, 2015). Ademais, o HET-CAM é um método validado e que apresenta resultados comparáveis ao Teste de Draize, realizados em coelhos e, atualmente, não recomendado para testar matérias-primas cosméticas ou produtos cosméticos principalmente para substâncias fortemente irritantes ou corrosivas (ABDELKADER *et al.*, 2015; LUEPKE; KEMPER, 1986; STEILING *et al.*, 1999; WILSON; STECK, 2000).

De acordo com o *Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods* - ICCVAM, os resultados do ensaio HET-CAM podem ser aceitos somente se os controles positivos, no caso a solução de SDS (dodecilsulfato de sódio) a 1,0% p/v e a solução de NaOH a 1,0% p/v, apresentarem índice de irritação ocular (IS) que as classifique como fortemente irritante (ICCVAM, 2010).

Com base na **Tabela 5.25**, os controles positivos apresentaram resultados aceitáveis, sendo os fenômenos de hemorragia e lise observados em poucos segundos ($t_{médio}$ = 20 s) para o controle SDS, enquanto que para o controle NaOH, observou-se o fenômeno de coagulação ($t_{médio}$ = 40 s). O controle negativo (NaCl

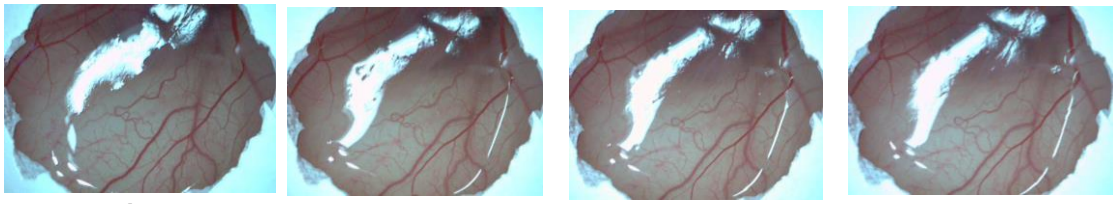
0,9% p/v) não desencadeou processo de alteração vascular. Portanto, os demais dados observados para as **F2** e **F4** podem ser aceitos.

Tabela 5.25. Classificação do potencial de irritação ocular – HET-CAM - das formulações contendo SBA-15 (**F2**) e filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 (**F4**)

Formulações	Concentração (%p/v)	$t_{médio}$ (s) H	$t_{médio}$ (s) L	$t_{médio}$ (s) C	IS	Classificação
F2	5,0	0	0	0	0	**NI**
F4	5,0	0	0	0	0	**NI**
NaCl	0,9	0	0	0	0	**NI**
SDS	1,0	20	20	0	11,20 ±0,2	**FI**
NaOH	1,0	6	6	40	18,74 ±1,5	**FI**

Legenda: NI = não irritante; LI = leve irritante; MI = moderadamente irritante; FI = fortemente irritante; IS = ; F2= base e SBA-15 ; F4= base e filtros solares encapsulados/incorporados; (n=3).

Os resultados demonstraram que tanto a formulação contendo SBA-15 quanto a formulação contendo os filtros encapsulados/incorporados na SBA-15 não provocaram fenômenos de hemorragia, lise e coagulação, no qual foram aplicados na concentração de 5,0% na membrana corioalantoide de ovo de galinha fecundado, sendo classificadas como não irritante. As imagens obtidas nos tempos 0; 0,5; 2 e 5 min encontram-se nas **Figuras 5.39** a **5.42**.



t = 0 minutos **t = 0,5 minutos** **t = 2,0 minutos** **t = 5,0 minutos**

Figura 5.39 Imagens obtidas em diferentes tempos do efeito do controle negativo (NaCl 0,9%) sobre a membrana corioalantoide (**Fonte:**autoria própria).

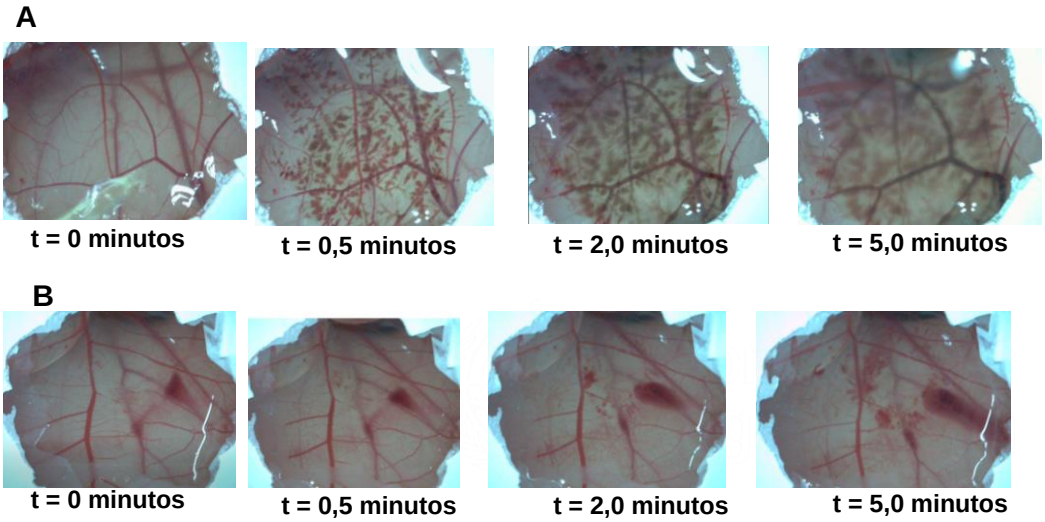


Figura 5.40 (A) Imagens obtidas em diferentes tempos do efeito da solução de NaOH (1,0% p/v); **(B)** efeito da dispersão de SDS (1,0% p/v) controles positivos sobre a membrana corioalantoide (**Fonte:**autoria própria).

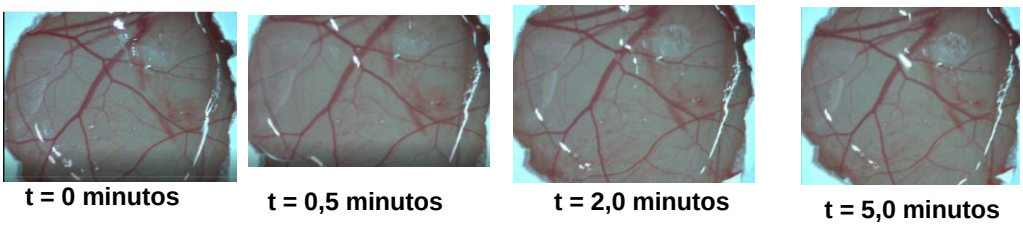


Figura 5.41 Imagens obtidas em diferentes tempos do efeito da formulação bastão/SBA-15 sobre a membrana corioalantoide (**Fonte:**autoria própria).

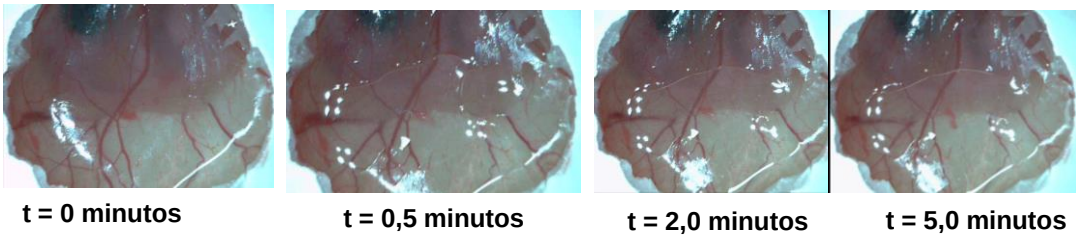


Figura 5.42 Imagens obtidas em diferentes tempos do efeito da formulação bastão/filtros encapsulados/incorporados na SBA-15 sobre a membrana corioalantoide (**Fonte:**autoria própria).

O método de HET-CAM é considerado um ensaio confiável para rastrear o potencial não irritante de compostos químicos, cosméticos e materiais nanoestruturados (KALWEIT *et al.*, 1990). Além disso, estas formulações são compostas de materiais graxos, como ceras e emolientes, que em geral apresentam baixo poder de irritação (STEILING *et al.*, 1999). A SBA-15 é um material mesoporoso, sua síntese se dá pela utilização de um co-polímero tribloco P123 (Pluronic® 123), tensoativo de característica não iônica, como molde para formação de microtúbulos hexagonais (KRESGE *et al.*, 1992; KRUK *et al.*, 2003; MATOS *et al.*, 2001). Conforme mencionado no item **5.2.1**, durante a síntese deste material, o tensoativo deve ser completamente eliminado pelo processo de calcinação.

Diversos estudos *in vivo* e *in vitro* comprovaram que a presença do co-polímero tribloco no material mesoporoso eleva a toxicidade deste material. Por este motivo a total retirada deste tensoativo, torna a SBA-15 um material seguro e de baixa toxicidade para o uso tópico (CHOI *et al.*, 2015; HUDSON *et al.*, 2008; LÓPES *et al.*, 2006).

A seleção deste método foi relevante para esta pesquisa, uma vez que os bastões fotoprotetores preparados são orientações para utilização facial. Durante a aplicação do produto, o usuário pode aplicá-lo na proximidade da região dos olhos, podendo acarretar irritação ocular. Desta forma, os resultados de HET-CAM demonstraram que as formulações contendo a SBA-15 e filtros encapsulados/incorporados na SBA-15 não apresentaram potencial para ocasionar irritação ocular.

5.18 Avaliação da permeação, retenção cutânea *in vitro* dos filtros solares: Avaliação do tempo de aplicação das formulações

Com a finalidade de avaliar a cinética de permeação e retenção cutânea dos filtros solares, foram utilizadas duas formulações fotoprotetoras (**F3** = filtros não encapsulados e **F4** = filtros encapsulados/incorporados na SBA-15) nos tempos 6, 12 e 24 horas (h).

Ao final dos experimentos de 6 e 12 h, as quantidades permeadas de AVO e MCO através da pele de orelha de porco foram abaixo do LQ para a metodologia de UHPLC/MS/MS. No entanto, após 24 h, foi possível detectar a presença destes compostos nos compartimentos receptores (**Figura 5.43**). As quantidades permeadas destes filtros foram: AVO - 149,0 ± 130,3 ng cm^{-2} (**F3**) e 54,5 ± 29,0 ng cm^{-2} (**F4**); MCO 129,8 ± 108,9 ng cm^{-2} (**F3**) e 108,9 ± 50,0 ng cm^{-2} (**F4**). Mediante os resultados das duas formulações (**F3** e **F4**), constatou-se que as quantidades de filtros solares permeados através da pele não apresentaram diferença ($p > 0,05$). Klimová e colaboradores obtiveram resultados similares aos descritos neste trabalho. Os autores avaliaram duas emulsões contendo BZF-3, AVO e MCO, sendo que dentre estes compostos, no tempo de 6 horas, foi possível detectar apenas a BZF-3 no compartimento receptor. Entretanto, assim como foi observado neste trabalho, no tempo de 24 horas, os três compostos foram encontrados no líquido receptor (KLIMOVÁ; HOJEROVÁ; BERÁNKOVÁ, 2015).

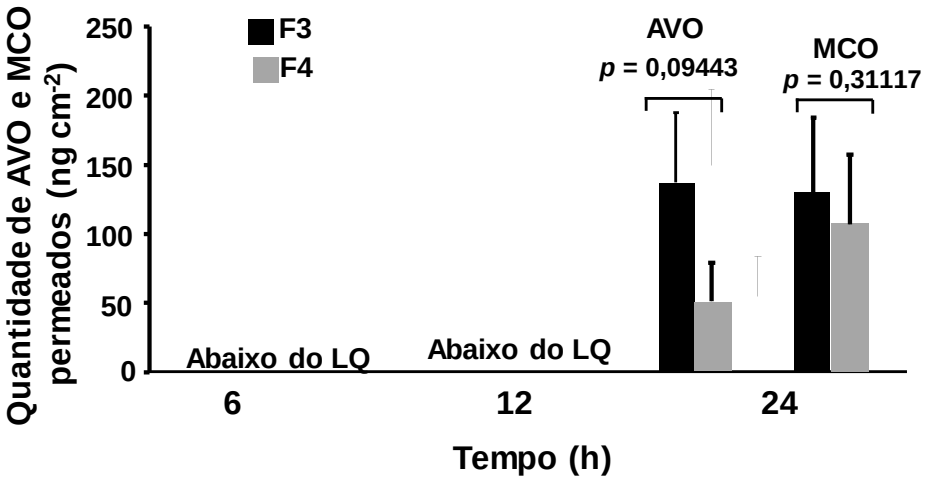


Figura 5.43 Comparação das quantidades de OMC e AVO permeadas na pele de porco após aplicação das formulações fotoprotetoras nos tempos 6, 12 e 24 h. **F3=** formulação filtros não encapsulados; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 6). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student ($p < 0,05$).

Em relação à BZF-3 foi possível detectar a presença deste composto nos compartimentos receptores nos tempos 6, 12 e 24 h. **Figura 5.44** ilustra as quantidades de BZF-3 permeadas em função do tempo. Após 6, 12 e 24 h observou-se aumento nas quantidades de BZF-3 no fluido receptor ($p < 0,05$), para ambas as formulações. Ademais, o estudo comparativo das formulações demonstrou que o processo de encapsulação/incorporação de BZF-3 na SBA-15 reduziu drasticamente a permeação deste composto através da pele, em todos os tempos de aplicação. Conforme os dados da **Tabela 5.26**, foi observado que as concentrações de BZF-3 oriundas da formulação F4 foram aproximadamente 30, 12 e 1,5 vezes menor nos tempos 6, 12 e 24 h, respectivamente, em comparação à **F3**.

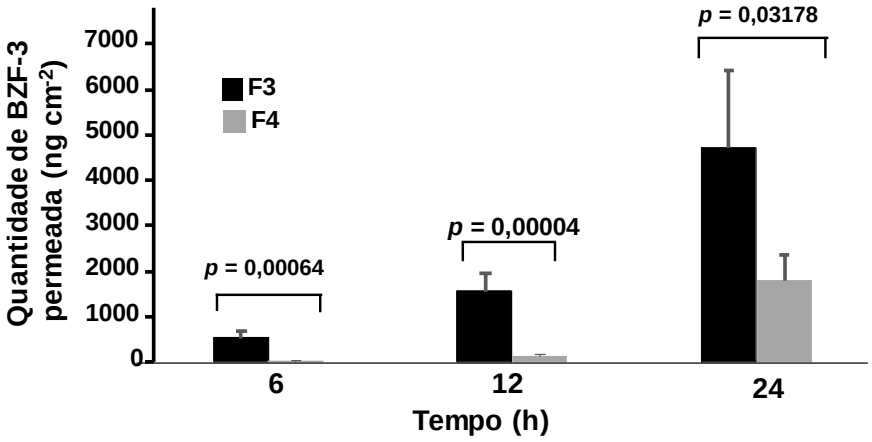


Figura 5.44 Comparação das quantidades de BZF-3 permeada na pele de porco após aplicação das formulações F3 e F4 nos tempos 6, 12 e 24 h . **F3 =** formulação filtros não encapsulados**; F4 =** formulação filtros encapsulados/ incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 6). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05).

A **Figura 5.45 (a)** ilustra a quantidade de BZF-3 recuperada no tecido tecido cutâneo após 6, 12 e 24 h. Observou-se que a quantidade de BZF-3 retida na pele à partir da formulação **F3** foi significante maior nos tempos 6 e 12 h (8,5 ± 1,0 µg cm^{-2} e 11,5 ± 2,7 µg cm^{-2}) em comparação à formulação **F4** (1,1 ± 0,3 µg cm^{-2} e 3,3 ± 2,7 µg cm^{-2}, 6 e 12 h respectivamente) ($p < 0,05$). A máxima retenção da BZF-3

foi atingida após 24 h, no entanto, o estudo comparativo entre **F3** (14,3 ± 2,9 µg cm^{-2}) e **F4** (11,4 ± 2,6 µg cm^{-2}) demonstrou que não houve diferença nas quantidades retidas deste composto (**Figura 5.45a**). A retenção cutânea da AVO (**Figura 5.45b)** a partir da formulação **F3** foi significativamente maior do que em relação à formulação **F4** nos tempos 6, 12 e 24 h. Os resultados de retenção obtidos para o MCO (**Figura 5.45c**) foram diferentes em relação à AVO. Nos tempos 6, 12 e 24 h não foram observadas diferença nas quantidades retidas deste composto entre as duas formulações.

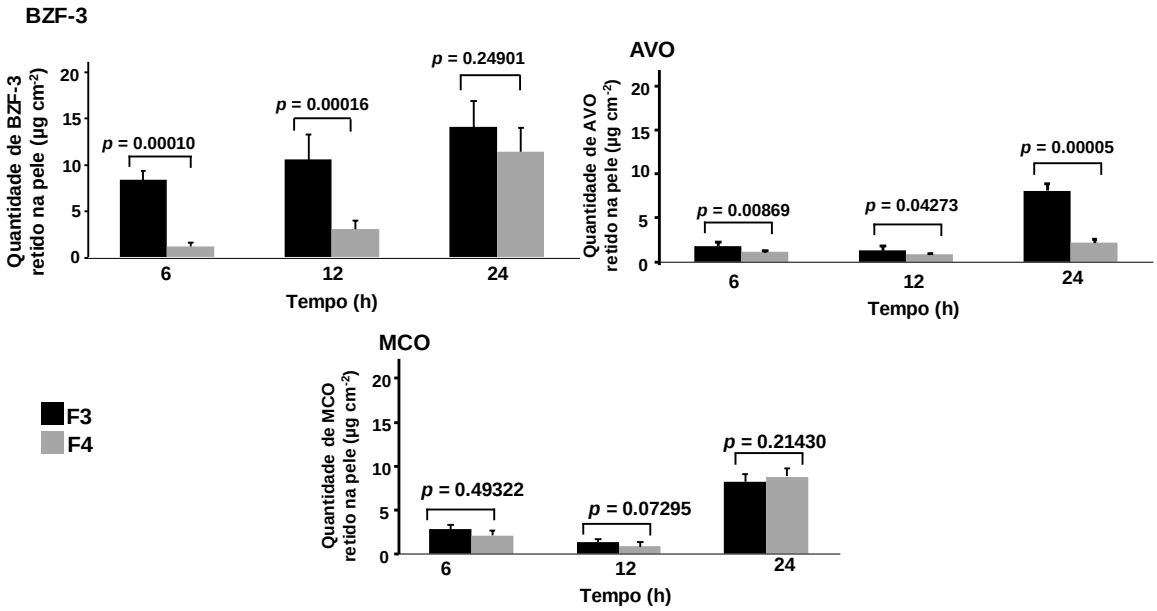


Figura 5.45 Comparação das quantidades de BZF-3, AVO e MCO retida na pele de porco após aplicação das formulações fotoprotetoras nos tempos 6, 12 e 24 h. **F3 =** formulação filtros não encapsulados; **F4 =** formulação filtros encapsulados/ incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 6). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05).

Tabela 5.26 Cinética de permeação e retenção dos filtros solares.

Formulações	Quantidade de BZF-3 detectado no compartimento receptor (ng cm^{-2})		
	Tempo (h)		
	6	12	24
F3	525,6 ± 165,3	1540,8 ± 404,5	2795,2 ± 1695,5
F4	15,5 ± 3,4	117,1 ± 48,4	1795,1 ± 594,0

Entre os filtros solares estudados neste trabalho, a BZF-3 apresentou a maior capacidade de permear a pele, em ambas formulações. Após 6 e 12 horas de exposição, foi possível quantificar a BZF-3 no compartimento receptor, não sendo possível quantificar a AVO e MCO. Considera-se que a BZF-3 apresentou maior capacidade permeadora, devido às suas características físico-químicas, em particular o peso molecular e a hidrofobicidade. O estrato córneo (EC) representa barreira principalmente a compostos hidrofílicos e macromoléculas, sendo a epiderme viável mais resistente aos compostos altamente lipofílicos. Ademais, para que uma molécula permeie através da pele, a mesma deve apresentar solubilidade lipídica e aquosa com coeficiente de patição água/octanol favorável (Log de P). Sendo assim, moléculas que possuem log de P maior que 4,0 ou menor -1,1 e peso molecular maior que 500 g mol^{-1}, apresentam baixa capacidade de permeação através da pele. O valor de log P (3,79) e peso molecular (228,25 g mol^{-1}) da BZF-3 permitem fácil permeabilidade do filtro através da pele. Apesar do MCO e AVO apresentarem baixo peso molecular 290,40 g mol^{-1} e 310,4 g mol^{-1}, respectivamente, os valores de coeficiente de partição destes compostos (5,80 para MCO e 4,51 para AVO) são elevados, o que os classificam como moléculas muito hidrofóbicas, motivo pelo qual estes filtros apresentaram baixa permeação cutânea (DURAND *et al.*, 2009; KLIMOVÁ; HOJEROVÁ; BERÁNKOVÁ, 2015; OECD, 2011).

O estudo comparativo entre as formulações utilizadas neste trabalho demonstrou que a formulação contendo a BZF-3 livre obteve alta permeação cutânea em todos os tempos de exposição. Por outro lado, o processo de

encapsulação/incorporação da BZF-3 reduziu a permeação do composto nos tempos 6, 12 e 24h. Ademais, a quantidade de BZF-3 retida na pele oriunda da F4 foi 8,0 e 3,5 vezes menor do que a F3 nos tempos 6 e 12 h.

Nenhum estudo foi realizado à respeito da permeação cutânea de filtros solares encapsulados na SBA-15, sendo assim o mecanismo pelo qual a SBA-15 reduz a permeação e retenção deste composto não foi elucidado.

Várias hipóteses foram propostas para explicar as possíveis interações entre nanopartículas, formulações e a pele. Cross e colaboradores (2001) realizaram um estudo comparativo entre formulações de alta e baixa viscosidade contendo BZF-3. Os autores concluiram que formulações de alta viscosidade diminuiram a difusão da BZF-3 através da pele, quando estas foram aplicadas em dose infinita. Gilbert e colaboradores (2016) desenvolveram nanopartículas poliméricas e lipídicas contendo benzofenona-3 e observaram perfil de permeação menor do que para o filtro isolado. Os autores sugeriram que a redução da permeação cutânea se deu pelo aprisionamento de BZF-3 na estrutura polimérica da nanopartícula e pelo processo de desidratação cutânea causada pelo polímero presente na composição da nanopartícula. Watkinson e colaboradores (2013) concluíram, por meio de um modelo teórico, que nanopartículas não permeiam a pele por difusão passiva. Segundo os autores, nanopartículas lipídicas sólidas e lipossomas, por exemplo, aumentam o perfil de permeação cutânea de determinados ativos por formar uma camada oclusiva na pele, aumentando sua hidratação (CROSS *et al.*, 2001; GILBERT *et al.*, 2016; WATKINSON *et al.*, 2013).

De acordo com o exposto, a redução da permeação e retenção dos filtros encapsulados na SBA-15 pode estar relacionada aos grupamentos funcionais presentes na superfície e no interior dos poros da sílica. Supõe-se que a presença de grupos silanois e hidroxilas presentes no material mesoporoso interajam com grupos cetonas e hidroxilas presentes nas estruturas da BZF-3, através de ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas (adsorção física). Estes tipos de ligações podem acarretar fortes interações entre o filtro e SBA-15, dificultando a difusão do composto de dentro dos poros e/ou na superfície do material mesoporoso.

Ademais, sabe-se que moléculas e ou partículas com tamanho maior que 20,0 nm não conseguem permear passivamente através do tecido cutâneo. Os resultados de MEV e difração a laser apresentados neste trabalho comprovaram que a SBA-15 apresentou tamanho de partícula entre 2,0 a 15,0 µm. Sendo assim, as partículas de SBA-15 apresentaram-se grande demais para o transporte passivo através da pele, fato que retardou a permeação e/ou retenção dos filtros encapsulados neste material, que apresenta alta habilidade de adsorção de água, fato que pode acarretar desidratação da pele e, por conseguinte, diminuir a difusão de compostos através da pele (DANELUTI *et al.*, 2017; DURAND *et al.*, 2009; EREN *et al.*, 2016; GILBERT *et al.*, 2016; NETO *et al.*, 2016).

5.18.1 Investigação do perfil de biodistribuição cutânea dos filtros solares nos tempos 6, 12 e 24 horas

No presente estudo, foi utilizado o crio seccionamento da pele combinado ao UHPLC-MS/MS para obter perfil de biodistribuição cutânea dos filtros solares após a aplicação das formulações fotoprotetoras. Esta técnica permitiu avaliar de forma mais precisa a biodisponibilidade cutânea, em função da posição dos filtros solares no EC, epiderme e derme. Desta forma, a biodistribuição apresenta vantagens em comparação com outros métodos, por exemplo, separação por *tape stripping* e separação por calor (CHEN; ALBERTI; KALIA, 2016; LAPTEVA *et al.*, 2014; SANDBY-MØLLER; POULSEN; WULF, 2003).

Recentemente, foi publicado um estudo comparativo entre a técnica de *tape stripping* e crio seccionamento da pele com a utilização do equipamento *cryostat*. Os pesquisadores concluiram que o seccionamento da pele usando *cryostat* pode ser um substituto para o método de *tape stripping* comumente usado, alcançando resultados confiáveis em termos de quantificação de fármacos nas diferentes camadas da pele (GIOKAS; SALVADOR; CHISVERT, 2007; SILVA *et al.*, 2018).

O perfil de biodistribuição da BZF-3 na pele suína (**Figura 5.46**) demonstrou que a quantidade retida da BZF-3 a partir da formulação **F3** foi maior que na formulação **F4** nas camadas superiores (20 a 160 µm) e mais profundas da pele (320 a 800 µm), nos tempos 6, 12 e 24 horas. Este resultado corroborou aos encontrados nos estudos de permeação cutânea mencionados anteriomente neste trabalho, no qual observou-se expressiva diminuição das quantidades retidas de BZF-3 após 6, 12 e 24 h.

De acordo com a **Figura 5.46**, constatou-se que a retenção total da BZF-3 nos 21 cortes da pele (profundidade de 800 µm) foi de 27, 4,5 e 1,5 vezes menor na formulação **F4** em relação à formulação **F3** nos tempos 6, 12 e 24 h, respectivamente. Observou-se que as quantidades de BZF-3 retidas no estrato córneo, epiderme viável e derme foram 24, 21 e 34 vezes menor na formulação F4 do que em comparação à **F3**, para o tempo de 6 h. No tempo de 12 h, as quantidades de BZF-3 retidas no estrato córneo, epiderme viável e derme foram 4,5, 3,0 e 7,5 vezes menor quando **F4** foi aplicada. Após 24 h constatou-se que as quantidades de BZF-3 oriunda da formulação **F4**, foi significativamente menor apenas na derme em comparação a **F3**.

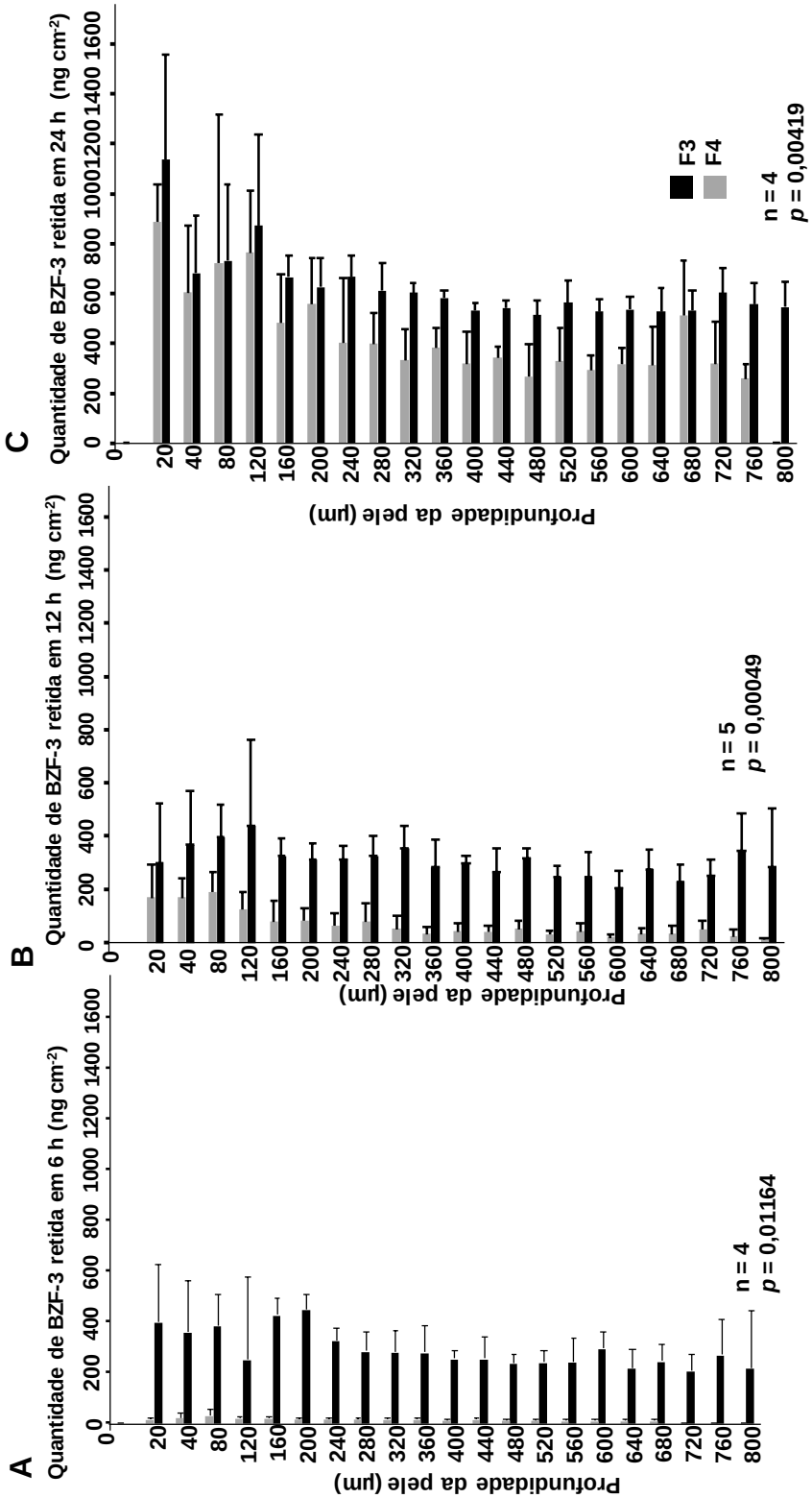


Figura 5.46 Perfil de biodistribuição cutânea da BZF-3 nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por **6 (A)**, **12 (B)** e **24 h (C)** . **F3 =** formulação filtros não encapsulados; **F4 =** formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05).

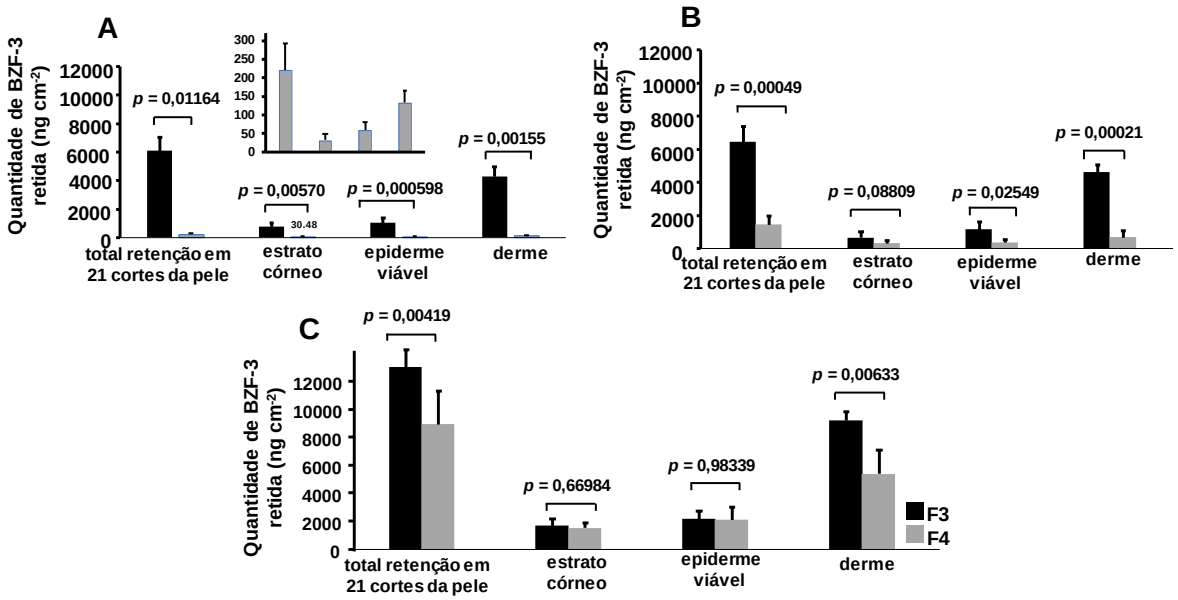


Figura 5.47 Quantidade da BZF-3 retida nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por **6 (A), 12 (B)** e **24 h (C)** . **F3 =** formulação filtros não encapsulados**; F4 =** formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05).

Os resultados de biodistribuição da AVO foram similares aos resultados obtidos para BZF-3. As **Figuras 5.48 e 5.49** demonstram que a quantidade total de AVO retida nos 21 cortes da pele à partir da formulação F4 foi menor do que para a formulação F3, em todos os tempos de exposição (p<0,05). Ademais, a comparação entre as duas formulações constatou que a formulação F4 apresentou baixa permeação deste filtro na epiderme viável e derme no tempo de 12 h, enquanto que, para os tempos de 6 e 24 horas, a permeação de AVO foi significativamente inferior apenas na derme. Contudo, observou-se que a profundidade máxima atingida da AVO no tempo de 6 h foi de 760 µm para as duas formulações, diferentemente do que foi constatado nos tempos 12 e 24 h.

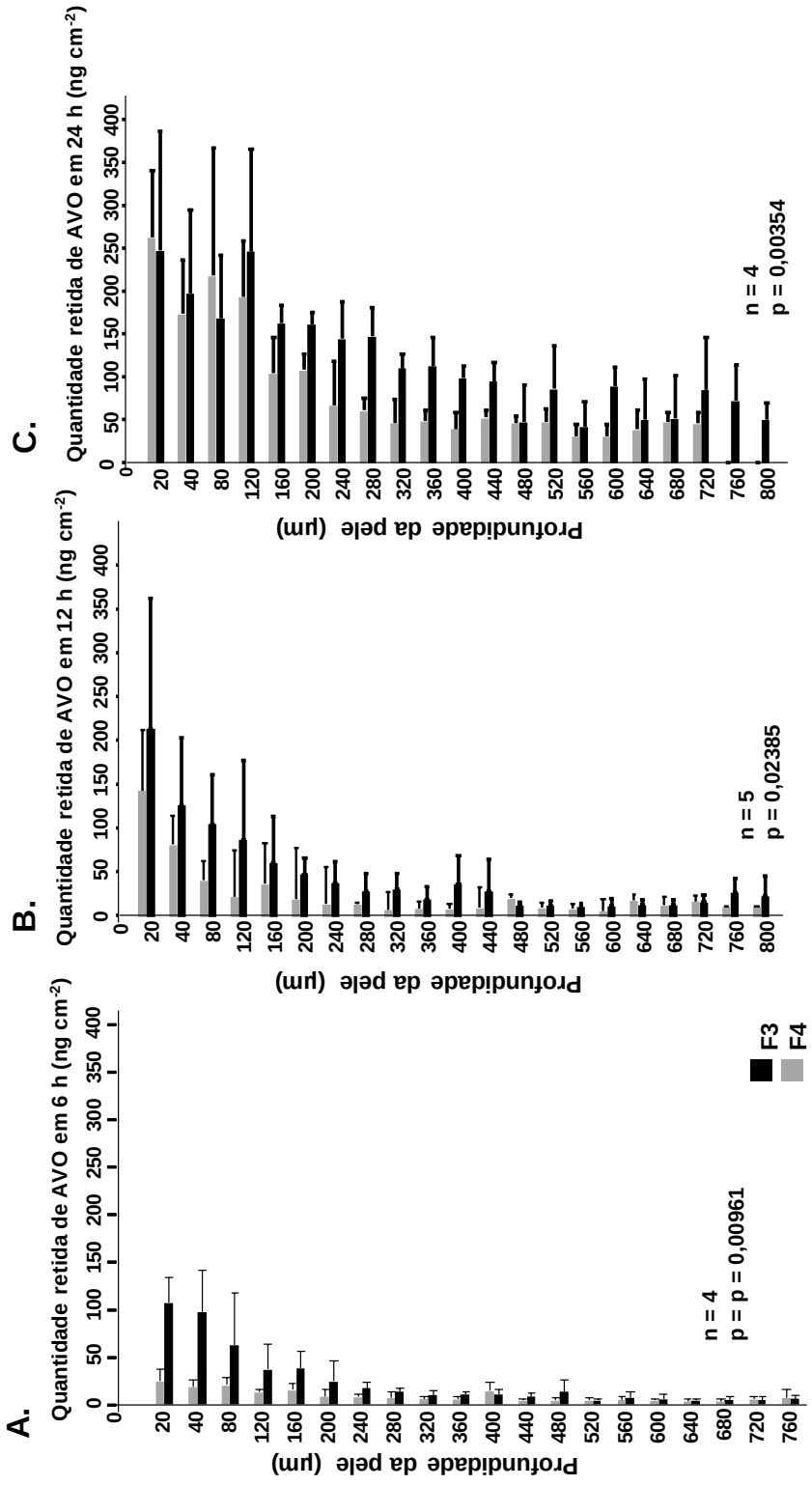


Figura 5.48 Perfil de biodistribuição cutânea da AVO nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por **6 (a), 12 (b)** e **24 h (c)** . **F3 =** formulação filtros não encapsulados; **F4 =** formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student ($p < 0,05$).

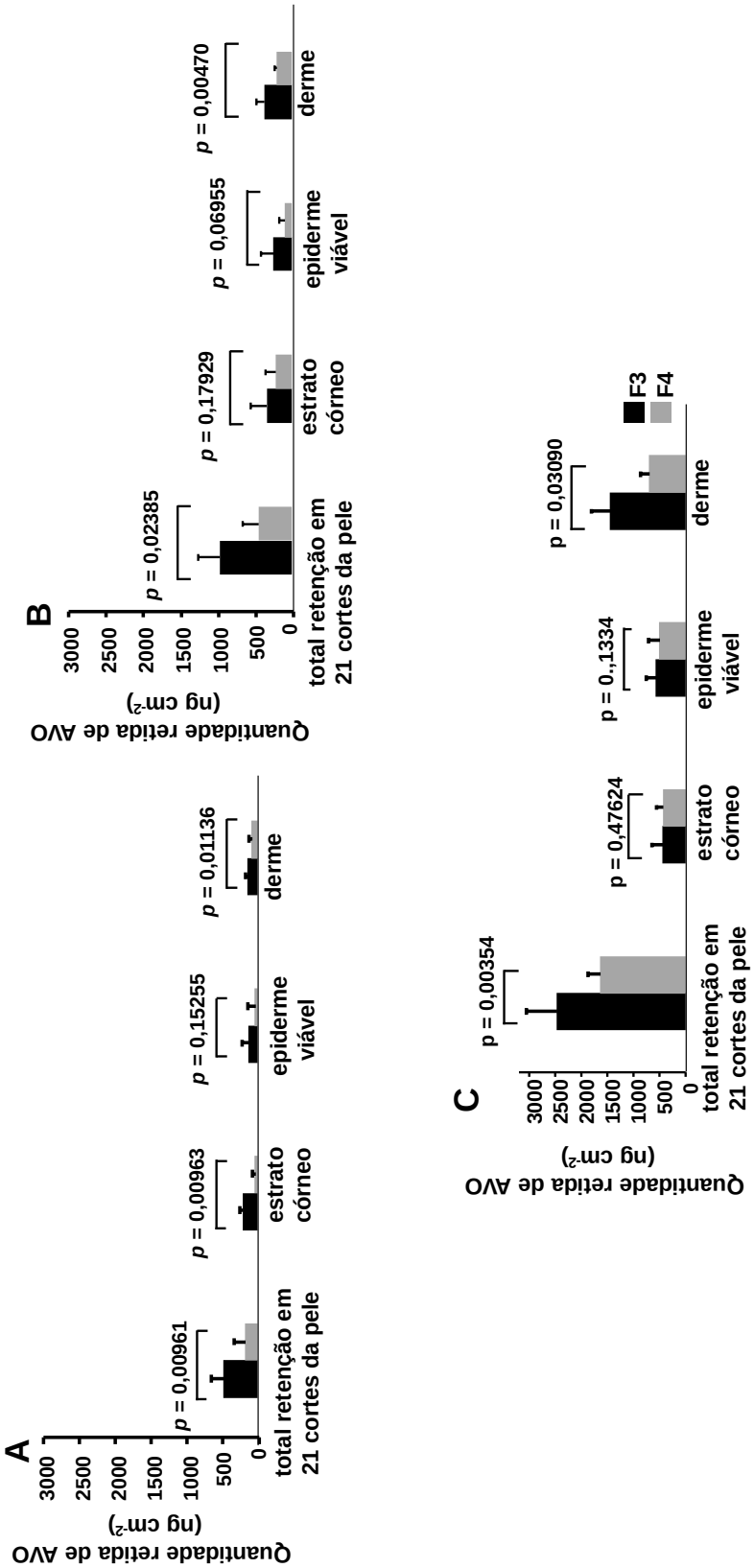


Figura 5.49 Quantidade da AVO retida nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por **6 (A), 12 (B)** e **24 h (C)** . **F3 =** formulação filtros não encapsulados; **F4 =** formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05).

Para o MCO, o perfil de biodsitribuição no tempo de 6, 12 e 24 h (**Figuras 5.49 e 5.50**) demonstrou que a quantidade retida deste composto não foi diferente entre as duas formulações. Estes resultados corroboraram aos encontrados no experimento de retenção total deste composto. Fato que pode ser explicado devido a este composto apresentar alto coeficiente de partição, dificultando a sua difusão nas camadas mais profundas da pele (DURAND et al., 2009; KLIMOVÁ; HOJEROVÁ; BERÁNKOVÁ, 2015).

De acordo com o exposto, pode-se inferir que, dentre os três filtros solares utilizados neste trabalho, a BZF-3 apresentou maior quantidade retida em todas as camadas da pele. Dentre as camadas da pele, a derme apresentou a maior concentração retida de BZF-3 oriunda da formulação F3 em todos os tempos de exposição ($p < 0,05$). Para o filtro solar AVO observou-se maior acúmulo na derme apenas nos tempos 12 e 24 h, enquanto que para MCO não foi observado diferença significativa nas quantidades retidas deste composto em todos os tempos de aplicação. Klimová e colaboradores (2015) observaram que as quantidades retidas de AVO, BZF-3 e MCO foram superiores na derme do que na epiderme. O estudo foi conduzido com a aplicação de dois tipos de emulsões nos tempos 6 e 24 horas. No entanto, os autores não conseguiram quantificar estes compostos no EC pela técnica de *tape stripping,* pois durante a aplicação das fitas a pele foi danificada o que inviabilizou o uso do EC. Outro estudo realizado por Jiménez *et al.* (2004), determinou-se pela técnica de *tape stripping* a quantidade retida de MCO a partir de quatro tipos de formulações, após 3 e 24 h . Constatou-se que tanto a formulação contendo o filtro livre como encapsulado apresentou maior retenção no EC e na epiderme viável. Resultado diferente do obtido neste trabalho (JIMÉNEZ *et al.*, 2004; KIMOVÁ; HOJEROVÁ; BERÁNKOVÁ, 2015).

O processo de encapsulação/incorporação da AVO e BZF-3 reduziu as quantidades permeadas destes compostos através das camadas da pele após 6 e 12 horas, fato que pode ser comprovado pela diminuição do acúmulo destes compostos na derme.

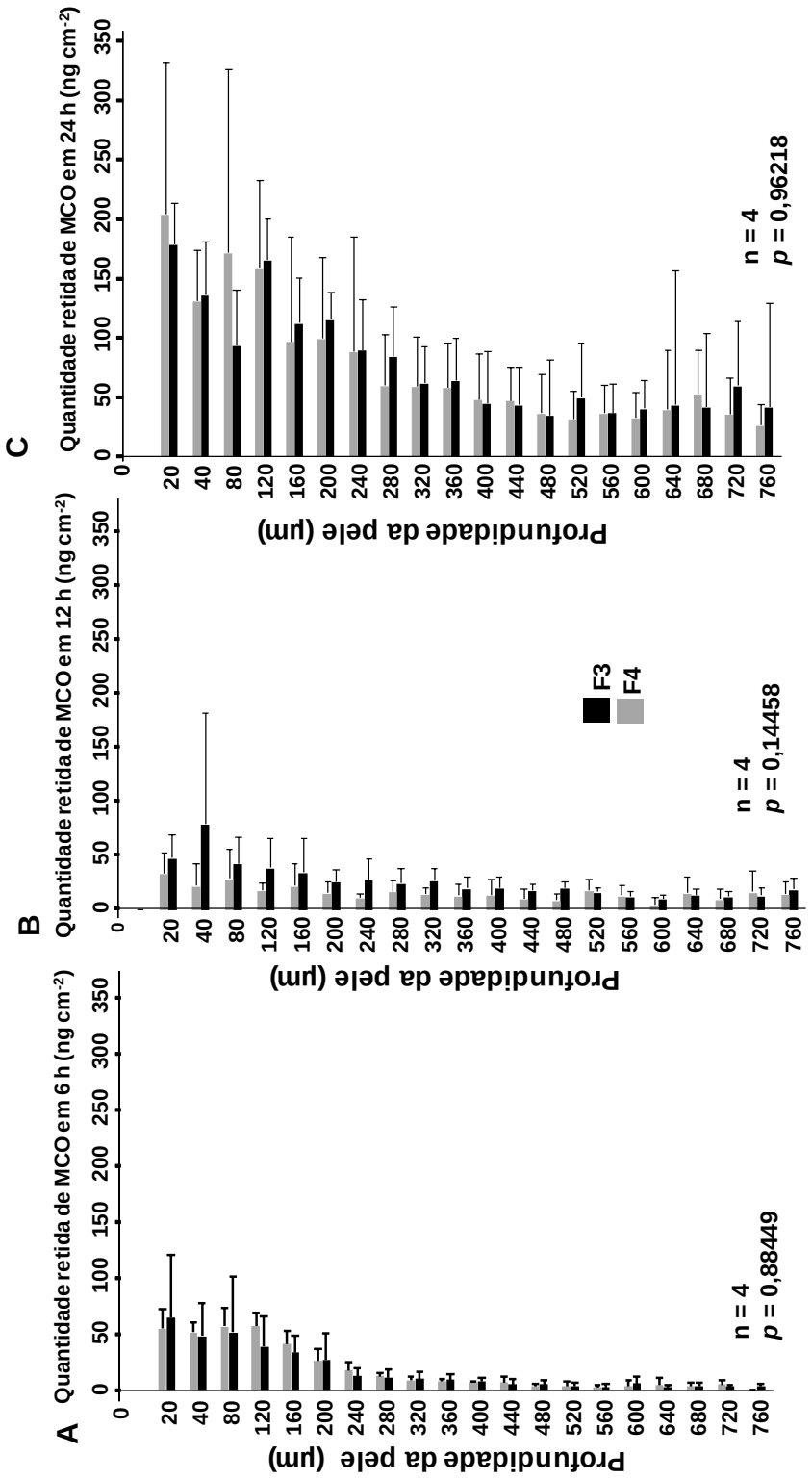


Figura 5.50 Perfil de biodistribuição cutânea da MCO nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por **6 (a)**, **12 (b)** e **24 h (c)** . **F3 =** formulação filtros não encapsulados; **F4 =** formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05).

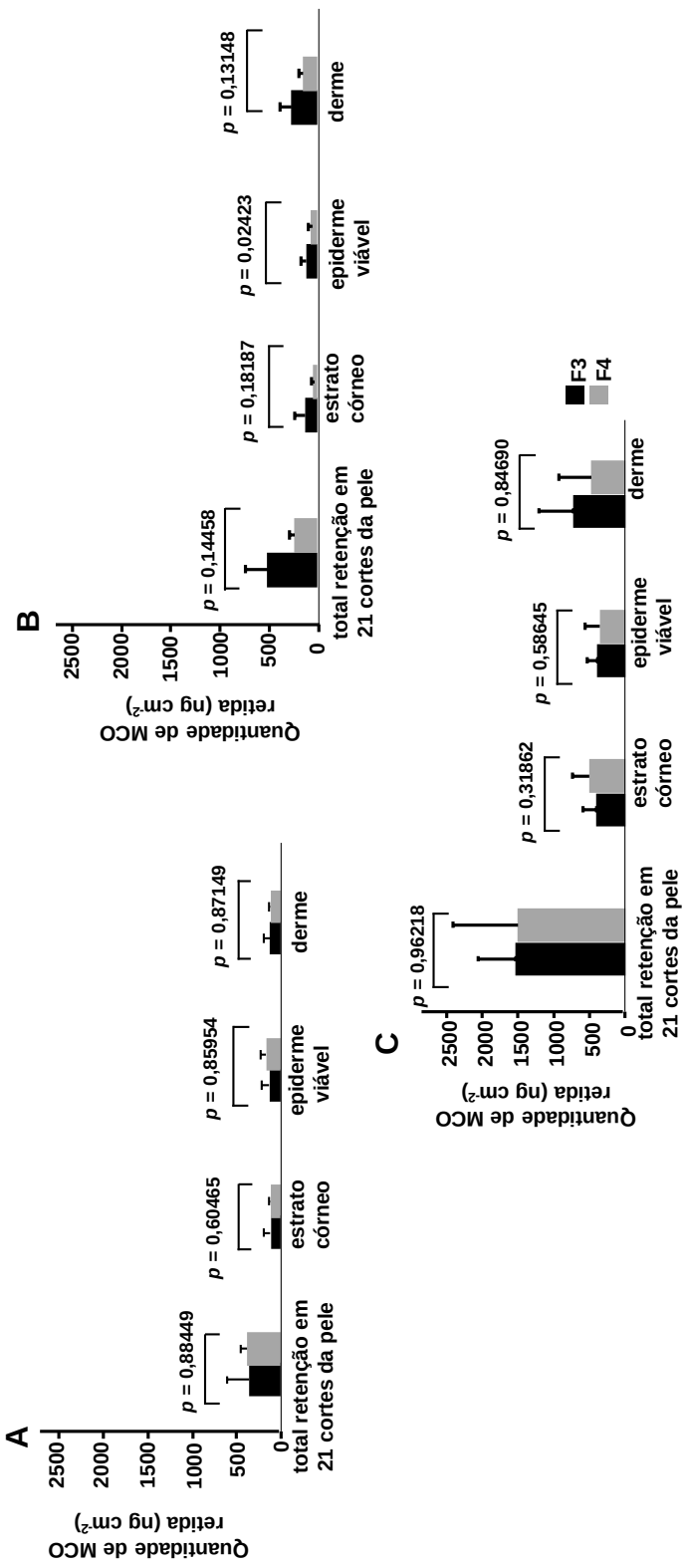


Figura 5.51 Quantidade da MCO retida nas camadas da pele suína (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200-800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **F3** e **F4** por **6 (A), 12 (B)** e **24 h (C)** . **F3 =** formulação filtros não encapsulados; **F4 =** formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 4 e 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05).

Diversos nanocarreadores foram desenvolvidos com o intuito de diminuir a permeação e retenção cutânea de filtros solares. Gilbert e colaboradores (2016) desenvolveram nanopartículas lipídicas e poliméricas de BZF-3 e observaram uma redução da permeação e retenção na derme em comparação ao composto isolado. Puglia e colaboradores (2014) também obtiveram nanopartículas lipídicas de AVO e MCO e concluíram que as formulações nanoestruturadas diminuiram a penetração dos filtros solares na pele (GILBERT *et al.*, 2016; PUGLIA *et al.*, 2014).

5.19 Avaliação da permeação e retenção cutânea *in vitro* na pele suína e pele humana

A fim de mimetizar as condições ideais de aplicação de fotoprotetores, realizou-se estudo comparativo entre a pele humana e de porco. Neste experimento foi aplicada a formulação **F4** e a formulação **FR**, sendo que esta última não apresentava MCO em sua composição e, consequentemente, este composto não foi analisado. De acordo com os resultados obtidos no item anterior, selecionou-se um tempo de aplicação que fosse mais próximo das condições reais de uso por parte dos usuários, sendo assim, o tempo de 12 horas foi selecionado.

Segundo Fernandez e colaboradores (2000), os períodos de exposição de 24 ou 48 horas de fotoprotetores em estudos *in vitro* são considerados inadequados e não realistas. Em outro trabalho publicado por Klimová e colaboradores (2015), foi concluído que o tempo de 6 horas é o período de exposição que mais se aproxima das condições de uso de fotoprotetores por parte dos usuários. Puglia e colaboradores (2014) conduziram um estudo de permeação de filtros solares encapsulados em nanopartículas lipídicas em pele humana por 24 horas. Durand e coloboradores (2012) também investigaram a permeação de emulsões fotoprotetoras e o tempo de aplicação foi de 24 horas em pele humana (DURAND *et al.*, 2009, 2010; FERNANDEZ *et al.*, 2000; KLIMOVÁ; HOJEROVÁ; PAŽOUREKOVÁ, 2013).

De acordo com os dados da **Tabela 5.27,** observou-se de que a quantidades de AVO permeada foi abaixo do LQ do método, tanto para a pele humana como para a pele de porco. No entanto, para a BZF-3 (**Figura 5.52**), foi possível quantificá-la, sendo que as quantidades deste composto a partir da formulação F4 foram inferiores em relação a FR (p < 0,05), para ambos modelos de tecido cutâneo. Como relatado anteriormente, estes resultados eram esperados, pois a encapsulação/incorporação da BZF-3 na SBA-15 reduz a difusão do composto na pele. O estudo comparativo demonstrou que as quantidades permeadas de BZF-3 a partir da formulação FR foram superiores na pele de porco do que na pele humana (p < 0,05) (**Tabela 5.27**). Contudo, para F4 não houve diferença (p = 0,3638) entre os dois modelos de pele.

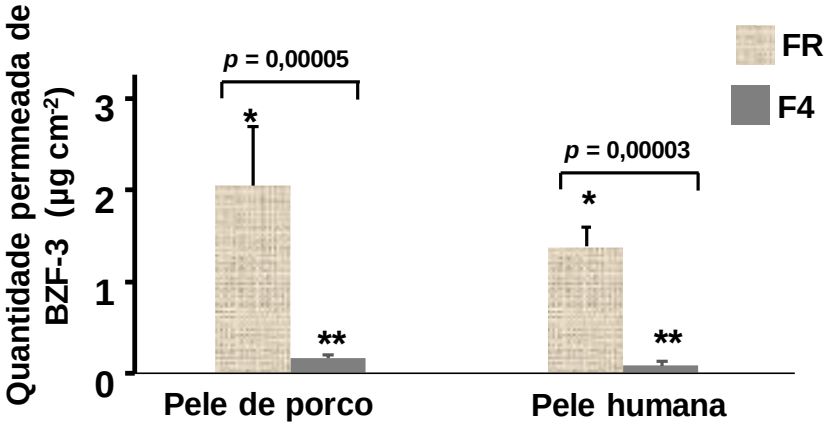


Figura 5.52 Comparação das quantidades de BZF-3 permeada na pele suína e humana após aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h . **FR =** formulação referência**; F4 =** formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 8). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05); ***p** = 0,00425 – comparação entre os dois modelos de pele da formulação **FR**; **** *p* = 0,3638 – comparação entre os dois modelos de pele da formulação **F4.**

Tabela 5.27. Quantidades de filtros solares permeados e retidos na pele humana e de porco

Formulações	Pele de porco				Pele humana			
	Permeação ($\mu g\ mL^{-1}$)		Retenção ($\mu g\ mL^{-1}$)		Permeação ($\mu g\ mL^{-1}$)		Retenção ($\mu g\ mL^{-1}$)	
	BZF-3	AVO	BZF-3	AVO	BZF-3	AVO	BZF-3	AVO
FR	2,04 ± 0,63	↓ LQ	11,96 ± 2,52	6,79 ± 3,00	1,37 ± 0,20	↓ LQ	6,41 ± 2,47	2,42 ± 0,99
F4	0,15 ± 0,05	↓ LQ	3,02 ± 1,00	2,17 ± 0,38	0,08 ± 0,06	↓ LQ	1,76 ± 0,70	1,37 ± 0,21

Legenda:FR = formulação referência**; F4 =** formulação filtros/SBA-15**;** ↓ LQ = abaixo do limite de quantificação. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 8);

As **Figura 5.53 e Figura 5.54** ilustram a quantidade de BZF-3 e AVO, respectivamente, retidos tanto na pele de porco como na pele humana após aplicação das formulações **FR** e **F4** avaliados por 12 h. Foi possível observar que a formulação **F4** para ambos os modelos de pele, apresentou uma redução significativa nas quantidades de BZF-3 e AVO em comparação à formulação **FR** (p <0,05). A diminuição da retenção cutânea foi de 4,5 e 3 vezes para BZF-3 e AVO, respectivamente, na pele de porco, enquanto que para a pele humana a redução foi de 2 e 1,7 vezes para BZF-3 e AVO, respectivamente (**Tabela 5.27**). A taxa de retenção de ambos filtros solares a partir das duas formulações foi menor na pele humana do que na pele de porco (p<0,05).

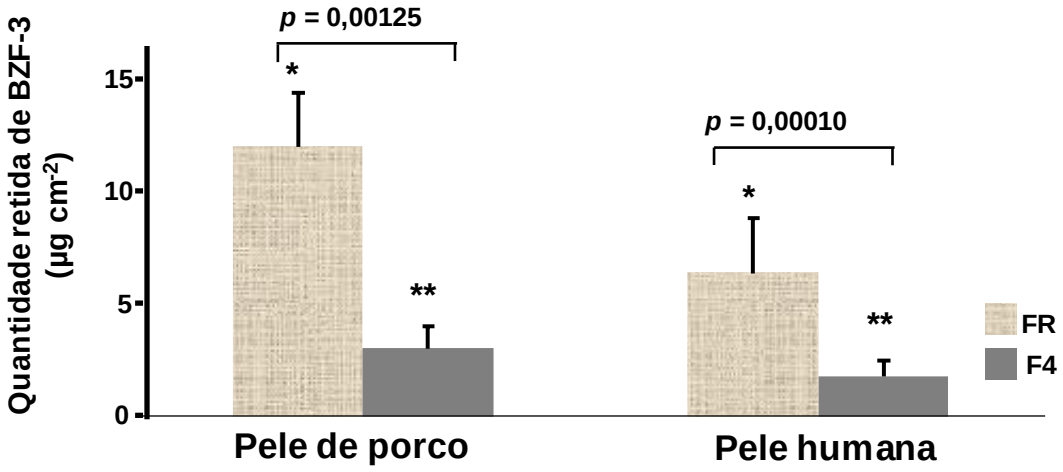


Figura 5.53 Quantidade de BZF-3 retida na pele de porco e humana após aplicação das formulações FR e F2 por 12 h . **FR =** formulação referência**; F2 =** formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 8). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05); ***** *p* = 0,00922 - comparação entre os dois modelos de pele da formulação **FR** ; ****** *p* = 0,01204- comparação entre os dois modelos de pele da formulação **F4.**

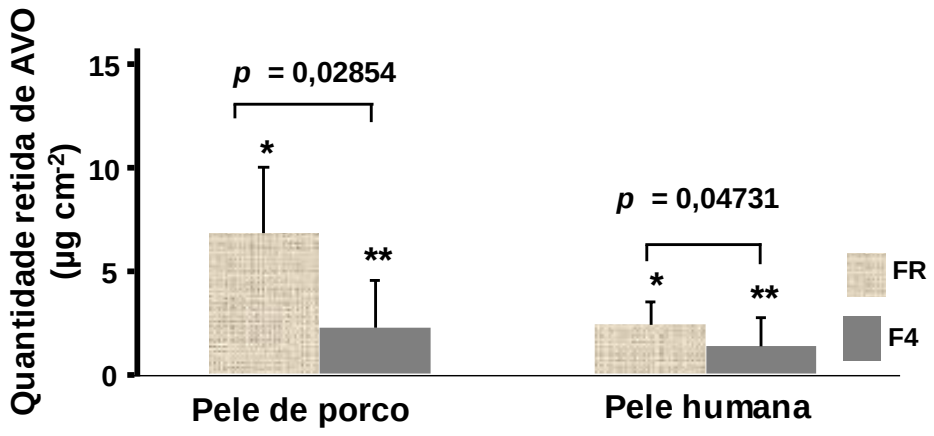


Figura 5.54 Quantidade de AVO retida na pele de porco e humana após aplicação das formulações FR e F2 por 12 h . **FR =** formulação referência**; F2 =** formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 6). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05); ***** *p* = 0,02711- comparação entre os dois modelos de pele da formulação **FR** ; ****** *p* = 0,00025 - comparação entre os dois modelos de pele da formulação **F4.**

5.19.1 Investigação do perfil de biodistribuição dos filtros solares em pele suína e pele humana

As **Figura 5.55 e 5.56** ilustram os perfis de biodistribuição da retenção de BZF-3 e AVO na pele de porco e pele humana das formulações **FR** e **F4**. As quantidades de BZF-3 e AVO permeadas nas peles de porco e humana à partir da **F4** foi menor do que em relação a **FR**, nas camadas superiores (20 a 160 µm) e mais profundas da pele (320 a 800 µm). A retenção total da BZF-3 nos 21 cortes da pele (profundidade de 800 µm) foi de 8 (pele humana) e 3,8 (pele suína) vezes menor na formulação **F4** (**Figura 5.55C**) do que na formulação **FR**, enquanto que as quantidades retidas de AVO oriundas da **F4** foram de 1,7 (pele humana) e 3 (pele de suina) vezes menor em relação a **FR**. Em uma avaliação mais detalhada, observou-se que as quantidades de BZF-3 retidas no EC, epiderme viável e derme foram 3,4, 7,7 e 11 vezes menor na formulação **F4** do que em relação a **FR**, para pele humana. Foram constatadas

para AVO reduções em suas quantidades retidas de 1,5 vezes (SC) e 2 vezes (derme) em relação à **FR**. Marcato e colaboradores (2014) realizaram estudo com nanopartículas poliméricas de BZF-3, as quais foram aplicadas em pele humana por um tempo de 24 horas. Os autores observaram um perfil de retenção epidérmica e dérmica de 3,4 e 4,4 vezes menor do que em relação ao composto isolado. Em outro trabalho, Puglia e colaboradores (2014) desenvolveram nanoestruturas lipídicas de AVO e MCO e constataram que a formulação nanoestruturada diminui a permeação no EC e epiderme. No entanto, os autores removeram a derme antes da realização do experimento. Pelo exposto, pode-se dizer que os resultados obtidos neste trabalho de doutorado foram similares aos encontrados pelos pesquisadores elencados. No entanto, em ambos os estudos citados, os experimentos foram conduzidos por um período de 24 horas e sabe-se que este tempo de exposição não reflete as condições ideais de uso de fotoprotetores (MARCATO *et al.*, 2011; PUGLIA *et al.*, 2014).

Para a pele de porco, as quantidades de BZF-3 retidas no EC, epiderme viável e derme foram 2,5, 2,8 e 5 vezes menores após aplicação da formulação F4. Para AVO a distribuição das quantidades a partir da formulação **F4** no EC, epiderme viável e derme foram 1,3, 3 e 4 vezes menores do que em relação a formulação **FR** (**Figura 5.55C)**. O estudo comparativo entre a pele de porco e pele humana demonstrou que a retenção total de BZF-3 foi maior na pele suína ($p<0,05$) do que na pele humana para ambas formulações. No entanto, para a AVO, não foi observado diferença nas quantidades de AVO entre a pele humana e suína, após aplicação da formulação F4 ($p> 0,05$).

Observou-se de que as quantidades de BZF-3 oriundas das duas formulações apresentaram um acúmulo de 3 (**F4**) e 1,3 (**FR**) vezes maior na derme da pele suína do que na pele humana (**Figuras 5.55C e D**). Para a AVO o aumento da retenção deste composto foi de 2,6 na derme suína do que em relação a derme humana (**Figura 5.56C e D**).

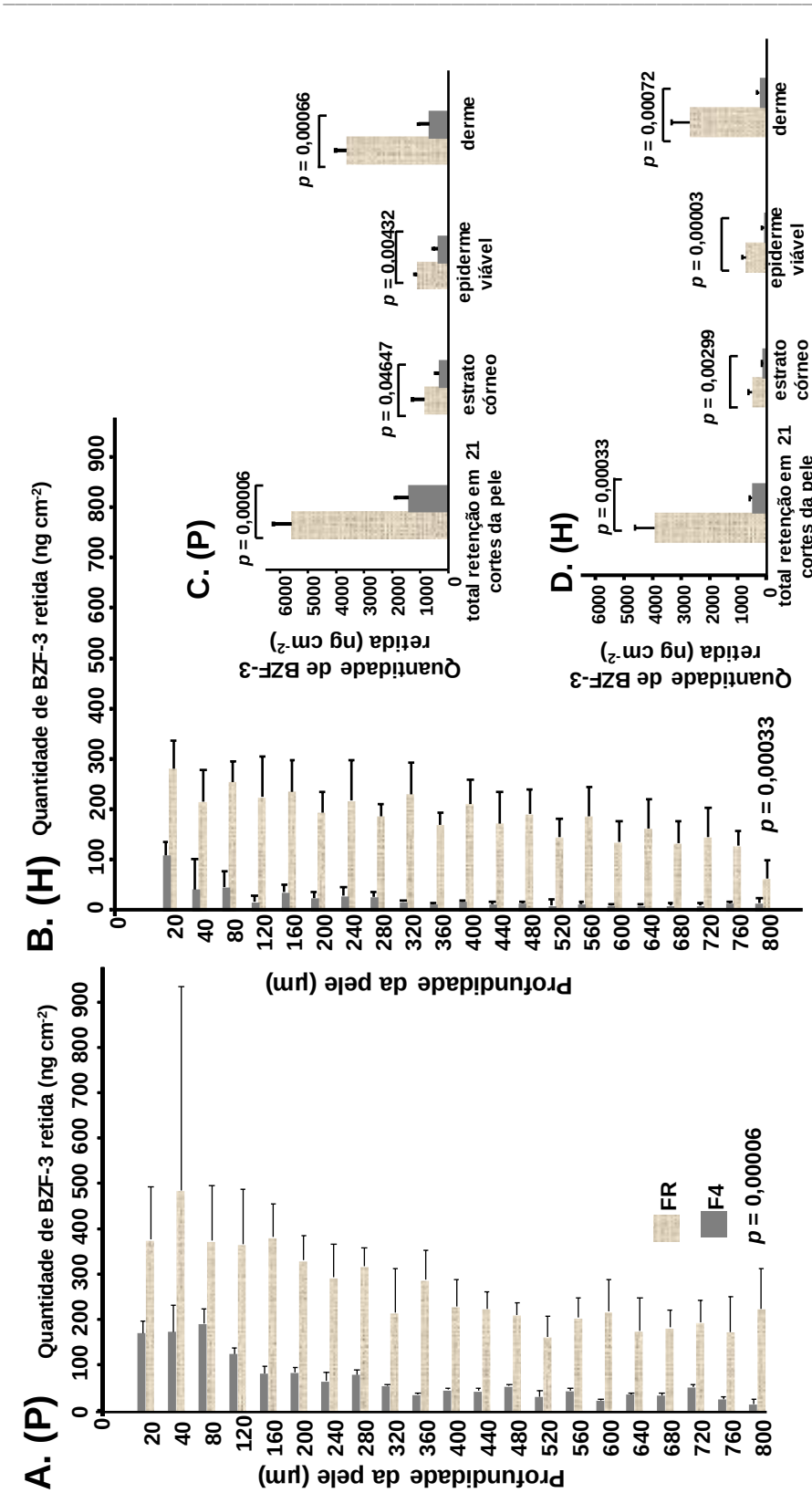


Figura 5.55 Perfil de biodistribuição cutânea de BZF-3 nas camadas da pele suína (**A**) e humana (**B**) (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h. **FR** = formulação referência; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Quantidade de BZF-3 retida nas camadas da pele suína (**C**) e da pele humana (**D**) (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student ($p < 0,05$).

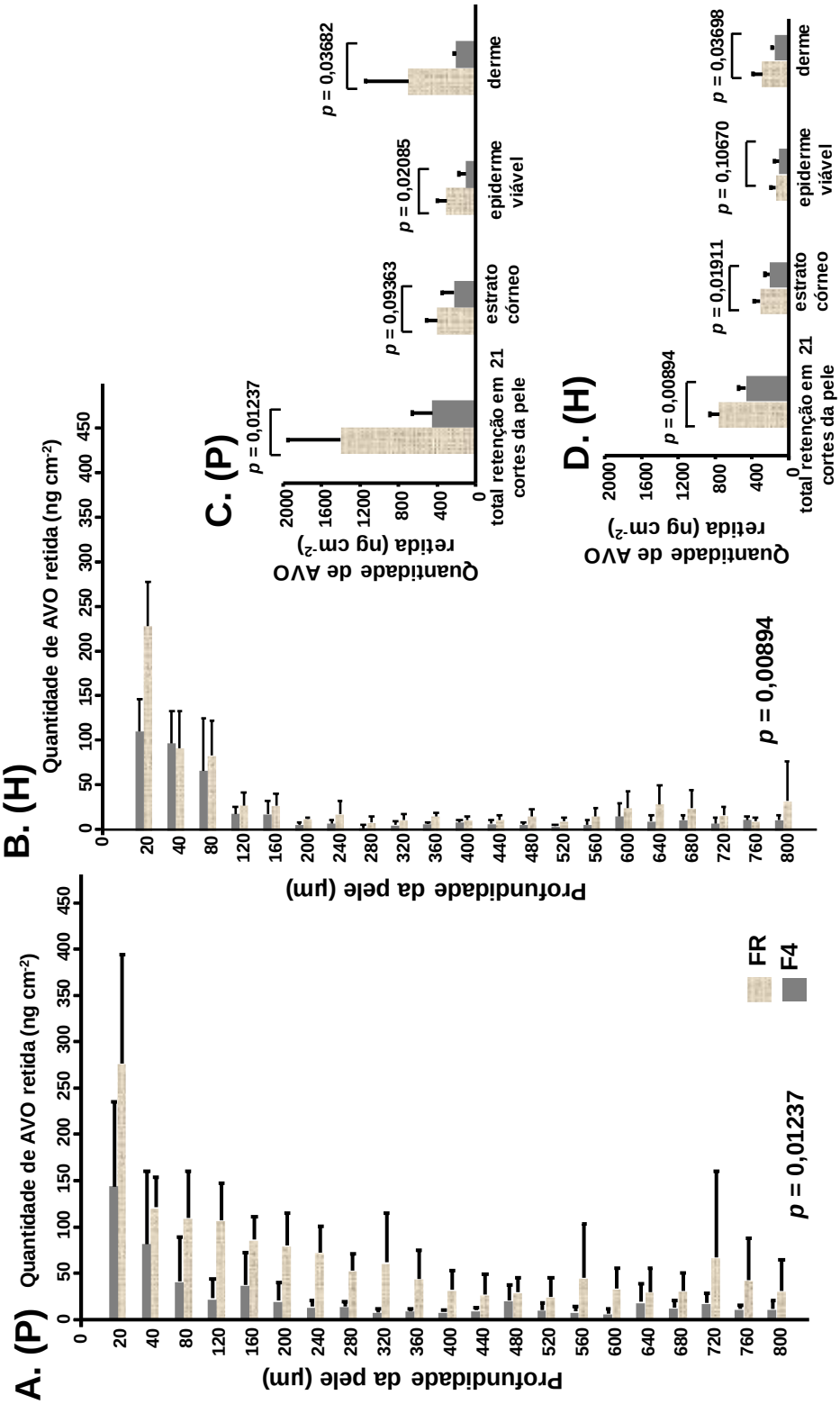


Figura 5.56 Perfil de biodistribuição cutânea de AVO nas camadas da pele suína (**A**) e humana (**B**) (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h. **FR** = formulação referência; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Quantidade de BZF-3 retida nas camadas da pele suína (**C**) e da pele humana (**D**) (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm) após a aplicação das formulações **FR** e **F4** por 12 h. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste *t* de Student (p <0,05).

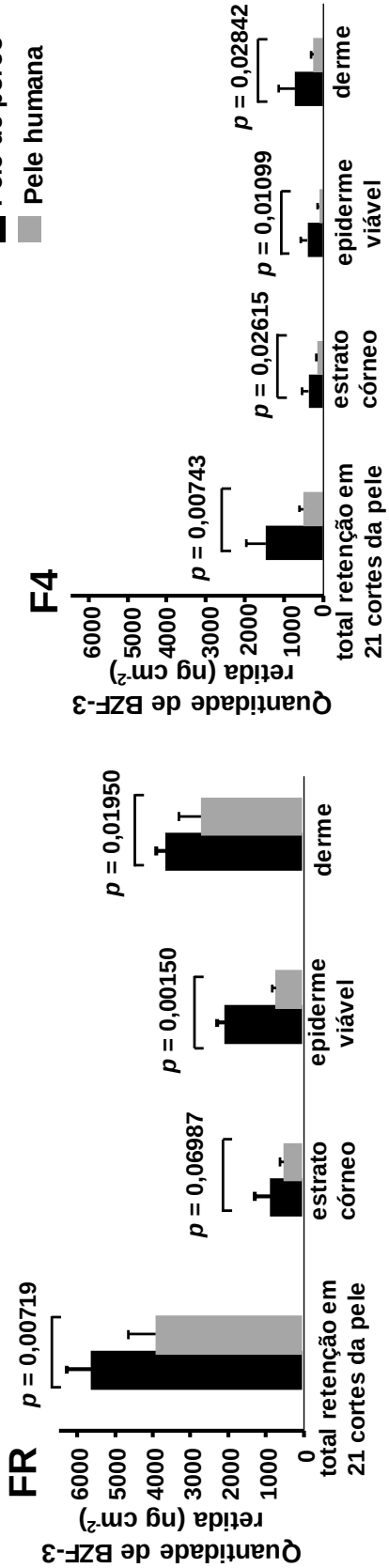


Figura 5.57 Comparação das quantidades retidas de BZF-3 oriunda das formulações **FR** e **F4** nas peles suína e humana (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm); **FR** = formulação referência; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste t de Student (p <0,05).

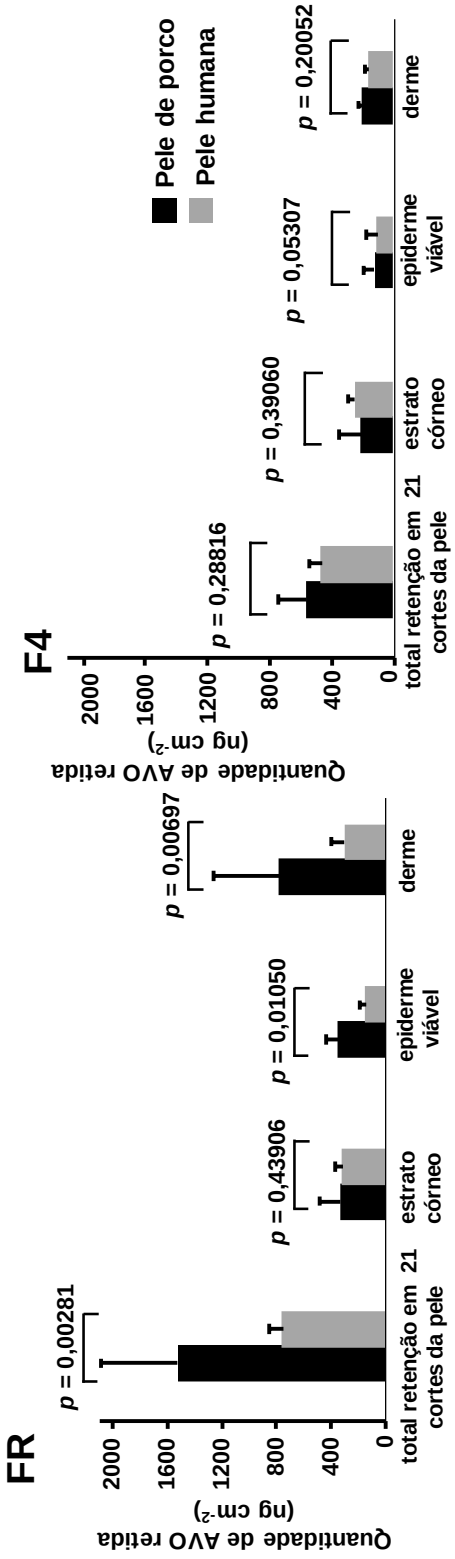


Figura 5.58 Comparação das quantidades retidas AVO oriunda das formulações **FR** e **F4** nas peles suína e humana (estrato córneo (0-60 µm) , epiderme viável (80-160 µm) e derme (200- 800 µm) em uma profundidade total de 800 µm); **FR** = formulação referência; **F4** = formulação filtros encapsulados/incorporados na SBA-15. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão (n = 5). Os resultados foram avaliados de acordo com o teste t de Student ($p < 0,05$).

A formulação contendo os filtros solares encapsulados/incorporados na SBA-15 apresentou redução nas quantidades retidas totais de BZF-3 e AVO tanto na pele suína como na pele humana. Estes resultados foram corroborados ao perfil de biodistribuição destes compostos, que pode ser comprovado pela diminuição da retenção dos mesmos em todas as camadas da pele suína e pele humana, especialmente na derme.

A pele de porco é considerada um dos melhores modelos *in vitro* para pele humana, devido à sua semelhança em termos de espessura e composição epidérmica, estrutura dérmica, conteúdo lipídico e morfologia geral (JACOBI *et al.*, 2007). Apesar disso, a pele humana seria a escolha ideal para o estudo *in vitro* de permeação, pois reflete as condições ideais do uso dos protetores solares (KLIMOVÁ; HOJEROVÁ; BERÁNKOVÁ, 2015; SEKKAT; KALIA; GUY, 2002).

De acordo com os resultados encontrados, pode-se constatar que tanto a retenção cutânea como a distribuição dos filtros solares nas camadas da pele, foram menores na pele humana do que na pele de porco, fato que pode ser explicado, pois as amostras de pele humana utilizadas neste experimento originaram-se de pacientes com abdominoplastia; portanto, a pele apresentou pequenos folículos pilosos, enquanto, que os pêlos na pele de porco apresentaram pêlos terminais maiores. Além disso, folículos pilosos em orelhas de porco podem se estender até 1,2 mm na derme, enquanto folículos pilosos humanos penetram muito menos (JACOBI *et al.*, 2007; LAPTEVA *et al.*, 2014; VOGT *et al.*, 2007).

Weigman e colaboradores (2009) realizaram estudo comparativo entre a pele humana *in vivo* e pele de porco *in vitro* pela técnica de *tape stripping*. Foi aplicada uma formulação na forma de emulsão contendo MCO com tempo de exposição de 1 hora. Após aplicação de 10 fitas adesivas, os autores observaram que o filtro localizou-se apenas no EC e que a concentração deste composto não foi diferente para os dois modelos de pele. Apesar destes resultados, os autores concluiram que a pele suína apresenta maior permeabilidade do que a pele humana, pois o tamanho dos

folículos pilosos na pele suína é maior do que na pele humana (WEIGMANN et al., 2009).

6. CONCLUSÕES

Pelas técnicas de MEV, MET, SAXRD e isotermas de adsorção/dessorção de N_2, conclui-se que a amostra de SBA-15 pura, apresentou estrutura altamente ordenada. A diminuição da área S_{BET} e V_p observada nas isotermas de adsorção/dessorção de N_2 dos materiais encapsulados na SBA-15 indicou que os filtros solares foram encapsulados neste material. Ademais, os resultados de SAXRD demonstraram que os filtros não modificaram a estrutura hexagonal do material mesoporoso e preencheram os poros da SBA-15.

Os resultados obtidos por meio das perdas de massa das curvas TG/DTG e AE dos materiais encapsulados/incorporados na SBA-15, permitiram determinar a porcentagem em massa de cada composto presente na superfície e dentro dos mesoporos da SBA-15, fato que foi confirmado pela técnica de isoterma de dessorção/adsorção de N_2.

A combinação dos três filtros solares encapsulados adicionados no ingrediente cosmético, promoveram um aumento de 52,0% no fator de proteção solar (FPS). Em relação as formulações na forma de bastão, todas foram consideradas de amplo espectro (FPS estimado acima de 15 e comprimento de onda crítico acima de 370 nm), no entanto, a formulação contendo os três filtros solares encapsulados/incorporados apresentou o maior valor de FPS (aumento de 94,0%). Entretanto, a SBA-15 não foi capaz de fotoestabilizar o sistema de filtros UV, tendo em vista decréscimo de **30,5%** do valor de FPS da formulação **F4,** após a etapa de irradiação. Todavia, após a irradiação, a formulação **F4**, apresentou menor % de decaimento do valor de FPS.

O ensaio de HET-CAM evidenciou que a SBA-15 não apresentou potencial para causar irritação ocular. O processo de encapsulação da BZF-3 reduziu as quantidades permeadas e retidas deste composto na pele de porcow nos tempos 6 e 12 horas, ademais, demonstrou-se que o processo de encapsulação da AVO e MCO também reduziu a retenção cutânea destes compostos. O estudo de biodistribuição demonstrou que, após 6 e 12 horas, os filtros solares oriundos da

formulação contendo os filtros encapsulados, apresentou baixa retenção na derme. Em relação ao estudo comparativo entre a pele suína e a pele humana, foi possível concluir de que as quantidades de BZF-3 permeadas e retidas na pele suína foram superiores em relação a pele humana.

Por fim, os resultados evidenciaram a possibilidade do desenvolvimento e caracterização de filtros solares encapsulados/incorporados em carreadores mesoporosos.

7. REFERÊNCIAS

ABDELKADER, H. et al. Critical appraisal of alternative irritation models: Three decades of testing ophthalmic pharmaceuticals. **British Medical Bulletin**, v. 113, n. 1, p. 59–71, 2015.

ABID, A. R. et al. Photo-stability and photo-sensitizing characterization of selected sunscreens' ingredients. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 332, p. 241–250, jan. 2017.

AFONSO, S. et al. Photodegradation of avobenzone: Stabilization effect of antioxidants. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 140, p. 36–40, 2014.

AIROLDI, C.; FARIAS, R. F. The use of organofuntionalized silica gel as sequestrating agent for metals. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 496–503, 2000.

AKRMAN, J. et al. Quartz plates for determining sun protection in vitro and testing photostability of commercial sunscreens. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 31, n. 2, p. 119–129, abr. 2009.

AL SHAMSI, M. et al. Biocompatibility of calcined mesoporous silica particles with cellular bioenergetics in murine tissues. **Chemical Research in Toxicology**, v. 23, n. 11, p. 1796–1805, 2010.

AMBROGI, V. et al. Mesoporous silicate MCM-41 containing organic ultraviolet ray absorbents: Preparation, photostability and in vitro release. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 68, n. 5–6, p. 1173–1177, 2007.

AMBROGI, V. et al. Oxybenzone Entrapped in Mesoporous Silicate MCM-41. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 8, n. 4, p. 212–217, 2013a.

AMBROGI, V. et al. Mesoporous Silicate MCM-41 as a Particulate Carrier for Octyl Methoxycinnamate: Sunscreen Release and Photostability. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 5, p. 1468–1475, maio 2013b.

ANDREASSI, M. Sunscreens and photoprotection. **Expert Review of Dermatology**, v. 6, n. 5, p. 433–435, 2011.

ÁVILA, D. G. S. **SÍNTESE , CARACTERIZAÇÃO E MODIFICAÇÃO SÍNTESE , CARACTERIZAÇÃO E MODIFICAÇÃO**. [s.l.] Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

BABY, A. et al. Estabilidade e estudo de penetração cutânea in vitro da rutina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 233–248, 2008.

BAE, Y. K.; HAN, O. H. Removal of copolymer template from SBA-15 studied by 1H MAS NMR. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 106, n. 1–3, p. 304–307, 2007.

BALK, S. J.; FISHER, D. E.; GELLER, A. C. Teens and indoor tanning: a cancer prevention opportunity for pediatricians. **Pediatrics**, v. 131, n. 3, p. 772–85, 2013.

BALOGH, T. S.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M. Proteção à radiação ultravioleta : recursos disponíveis na. v. 1, p. 732–742, 2011.

BENDOVÁ, H. et al. In vitro approaches to evaluation of Sun Protection Factor. **Toxicology in Vitro**, v. 21, n. 7, p. 1268–1275, 2007.

BENECH-KIEFFER, F. et al. Percutaneous Absorption of Sunscreens in vitro: Interspecies Comparison, Skin Models and Reproducibility Aspects. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 13, n. 6, p. 324–335, 2000.

BERBICZ, F. et al. Use of photoacoustic spectroscopy in the characterization of inclusion complexes of benzophenone-3-hydroxypropyl-β-cyclodextrin and ex vivo evaluation of the percutaneous penetration of sunscreen. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 79, n. 2, p. 449–457, 2011.

BÉRUBÉ, F.; KALIAGUINE, S. Calcination and thermal degradation mechanisms of triblock copolymer template in SBA-15 materials. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 115, n. 3, p. 469–479, 2008.

BLASI, P. et al. The real value of novel particulate carriers for sunscreen formulation. **Expert Review of Dermatology**, v. 6, n. 5, p. 509–517, 2011.

BOX; HUNTER. **Statistics for experiments. Design, innovation and discoverytle**. 2. ed ed. New Jersey: Wiley-Interscience, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n°899, de 29 de maio de 2003.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da diretoria colegiada nº 30, de 1º de junho de 2012**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília. 2012.

BRATKOVICS, S.; SAPOZHNIKOVA, Y. Determination of seven commonly used organic UV filters in fresh and saline waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. v. 13, n. Table 2, p. 2943–2950, 2011.

CAL, K.; CENTKOWSKA, K. Use of cyclodextrins in topical formulations: Practical aspects. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 3, p. 467–478, 2008.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis Viewpoint and discussion. v. 689, p. 175–180, 1997.

CESTARI, T. F.; OLIVEIRA, F. B. DE; BOZA, J. C. Considerations on photoprotection and skin disorders. **Annales de dermatologie et de vénéréologie**, v. 139 Suppl, p. 135–143, 2012.

CHEN, Y.; ALBERTI, I.; KALIA, Y. N. Topical iontophoretic delivery of ionizable, biolabile aciclovir prodrugs: A rational approach to improve cutaneous bioavailability. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 99, p. 103–113, 2016.

CHENG-YU LAI, † et al. A Mesoporous Silica Nanosphere-Based Carrier System with Chemically Removable CdS Nanoparticle Caps for Stimuli-Responsive Controlled Release of Neurotransmitters and Drug Molecules. n. 6, p. 4451–4459, 2003.

CHOI, Y. et al. A Biodegradation Study of SBA-15 Microparticles in Simulated Body Fluid and in Vivo. **Langmuir**, v. 31, n. 23, p. 6457–6462, 2015.

CIESLA, U.; SCHÜTH, F. Ordered mesoporous materials. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 27, p. 131–149, 1999.

COSMETICS EUROPE. **In vitro method for the determination of the UVA protection factor and "critical wavelength**" values of sunscreen products. Brussels. p. 28 p, 2011.

CROSS, S. E. et al. Can Increasing the Viscosity of Formulations be used to Reduce the Human Skin Penetration of the Sunscreen Oxybenzone? p. 147–150, 2001.

DA SILVA, L. C. C. et al. Adsorption/Desorption of Hg(II) on FDU-1 Silica and FDU-1 Silica Modified with Humic Acid. **Separation Science and Technology**, v. 50, n. 7, p. 984–992, 2015.

DANELUTI, A. L. M. et al. Evaluation and characterization of the encapsulation/entrapping process of octyl methoxycinnamate in ordered mesoporous silica type SBA-15. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 20 mar. 2017.

DE ÁVILA, S. G.; SILVA, L. C. C.; MATOS, J. R. Optimisation of SBA-15 properties using Soxhlet solvent extraction for template removal. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 234, p. 277–286, 2016.

DE OLIVEIRA, C. A. et al. Safety and efficacy evaluation of gelatin-based nanoparticles associated with UV filters. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 140, p. 531–537, 2016.

DEFLANDRE, A.; LANG, G. Photostability assessment of sunscreens. Benzylidene camphor and dibenzoylmethane derivatives. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 10, n. 2, p. 53–62, 1988.

DIFFEY, B. Solar spectral irradiance and summary outputs using excel. **Photochemistry and Photobiology**, v. 91, n. 3, p. 553–557, 2015.

DIFFEY, B. L. et al. In vitro assessment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 43, n. 6, p. 1024–1035, 2000.

DIFFEY, B. L.; GRICE, J. The influence of sunscreen type on photoprotection. **British Journal of Dermatology**, v. 137, n. 1, p. 103–105, 1997.

DJAVAHERI-MERGNY, M. et al. Ultraviolet-A induces activation of AP-1 in cultured human keratinocytes. **FEBS Letters**, v. 384, n. 1, p. 92–96, 1996.

DRAELOS, Z. D. The cosmeceutical realm. **Clinics in Dermatology**, v. 26, n. 6, p. 627–632, 2008.

DURAND, L. et al. In vitro evaluation of the cutaneous penetration of sprayable sunscreen emulsions with high concentrations of UV filters. p. 279–292, 2009.

DURAND, L. et al. Encapsulation of ethylhexyl methoxycinnamate, a light-sensitive UV filter, in lipid nanoparticles. **Journal of Microencapsulation**, v. 27, n. 8, p. 714–725, 2010.

EREN, Z. S. et al. Improved solubility of celecoxib by inclusion in SBA-15 mesoporous silica: Drug loading in different solvents and release. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 235, p. 211–223, nov. 2016.

FERNANDEZ, C. et al. LC analysis of benzophenone-3 : II application to determination of ‘ in vitro ’ and ‘ in vivo ’ skin penetration from solvents , coarse and submicron emulsions. v. 24, p. 155–165, 2000.

FREITAS, L. B. DE O. et al. Mesoporous silica materials functionalized with folic acid: preparation, characterization and release profile study with methotrexate. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 77, n. 1, p. 186–204, 25 jan. 2015.

FREITAS, L. B. DE O. et al. Mesoporous silica materials functionalized with folic acid: preparation, characterization and release profile study with methotrexate. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 77, n. 1, p. 186–204, 25 jan. 2016.

GILBERT, E. et al. Commonly used UV filter toxicity on biological functions: Review of last decade studies. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 35, n. 3, p. 208–219, 2013.

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

GIOKAS, D. L.; SALVADOR, A.; CHISVERT, A. UV filters: From sunscreens to human body and the environment. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 360–374, 2007.

GONZÁLEZ, S.; FERNÁNDEZ-LORENTE, M.; GILABERTE-CALZADA, Y. The latest on skin photoprotection. **Clinics in Dermatology**, v. 26, n. 6, p. 614–626, nov. 2008.

GOSCIANSKA, J. et al. Ordered mesoporous silica modified with lanthanum for ibuprofen loading and release behaviour. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 94, p. 550–558, 2015.

GUO, Z. et al. Effects of particle morphology, pore size and surface coating of mesoporous silica on Naproxen dissolution rate enhancement. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 101, p. 228–35, 2013.

HALL, H. I. et al. Sun protection behaviors of the U.S. white population. **Preventive medicine**, v. 26, n. 4, p. 401–407, 1997.

HANSON, K. M. et al. Photochemical degradation of the UV filter octyl methoxycinnamate in solution and in aggregates. **Photochemical & photobiological sciences**, v. 14, n. 9, p. 1607–16, 2015.

HUDSON, S. P. et al. The biocompatibility of mesoporous silicates. **Biomaterials**, v. 29, n. 30, p. 4045–4055, out. 2008.

HUONG, S. P. et al. Photoreactivity of the sunscreen butylmethoxydibenzoylmethane (DBM) under various experimental conditions. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 196, n. 1, p. 106–112, 2008.

ICCVAM. **ICCVAM Test Method Evaluation Report: Current Validation Status of In Vitro Test Methods Proposed for Identifying Eye Injury Hazard Potential of Chemicals and Products. NIH Publication Nº. 10-7553.** Research Triangle Park, NC: NIEHS, 2010.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. **Validation of analytical procedures**: Text and methodology. v. 1994, n. November 1996, p. 41, 2005.

JACOBI, U. et al. Porcine ear skin: An in vitro model for human skin. **Skin Research and Technology**, v. 13, n. 1, p. 19–24, 2007.

JANJUA, N. R. et al. Sunscreens in human plasma and urine after repeated whole-body topical application. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 22, n. 4, p. 456–461, 2008.

JANSEN, R. et al. Photoprotection: Part II. Sunscreen: Development, efficacy, and controversies. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 69, n. 6, p. 1–14, 2013.

JIMÉNEZ, M. . M. et al. Influence of encapsulation on the in vitro percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 272, n. 1–2, p. 45–55, 2004.

KALWEIT, S. et al. A national validation project of alternative methods to the Draize rabbit eye test. **Toxicology in Vitro**, v. 4, n. 4–5, p. 702–706, jan. 1990.

KANDEKAR, S. G. et al. Selective delivery of adapalene to the human hair follicle under finite dose conditions using polymeric micelle nanocarriers. **Nanoscale**, v. 10, n. 3, p. 1099–1110, 2018.

KIM, M. G. et al. A sensitive LC-ESI-MS/MS method for the quantification of avobenzone in rat plasma and skin layers: Application to a topical administration study. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1003, p. 41–46, 2015.

KIM, S. Y. Simultaneous determination of refractive index, extinction coefficient, and void distribution of titanium dioxide thin film by optical methods. **Applied Optics**, v. 35, n. 34, p. 6703, 1 dez. 1996.

KIWILSZA, A et al. Ordered mesoporous silica material SBA-15: loading of new calcium channel blocker--lacidipine. **Journal of microencapsulation**, v. 30, n. 1, p. 21–7, 2013.

KLIMOVÁ, Z.; HOJEROVÁ, J.; BERÁNKOVÁ, M. Skin absorption and human exposure estimation of three widely discussed UV filters in sunscreens - Invitro study mimicking real-life consumer habits. **Food and Chemical Toxicology**, v. 83, p. 237–250, 2015.

KLIMOVÁ, Z.; HOJEROVÁ, J.; PAŽOUREKOVÁ, S. Current problems in the use of organic UV filters to protect skin from excessive sun exposure. **Acta Chimica Slovaca**, v. 6, n. 1, p. 82–88, 2013.

KOCKLER, J. et al. Photostability of sunscreens. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 13, n. 1, p. 91–110, 2012.

KOCKLER, J. et al. HPLC Method for the Simultaneous Determination of the UV-Filters Butyl Methoxy Dibenzoylmethane and Octocrylene in the Presence of Their Photodegradants. **Chromatographia**, v. 76, n. 23–24, p. 1721–1727, 24 dez. 2013.

KRAUSE, M. et al. Sunscreens: are they beneficial for health? An overview of endocrine disrupting properties of UV-filters. **International journal of andrology**, v. 35, n. 3, p. 424–36, 2012.

KRESGE, C. T. et al. Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. **Nature**, v. 359, n. 6397, p. 710–712, 22 out. 1992.

KRUK, M. et al. Characterization of the porous structure of SBA-15. **Chemistry of Materials**, v. 12, n. 7, p. 1961–1968, 2000.

KRUK, M. et al. Characterization of regular and plugged SBA-15 silicas by using adsorption and inverse carbon replication and explanation of the plug formation mechanism. **Journal**

of Physical Chemistry B, v. 107, n. 10, p. 2205–2213, 2003.

LAPTEVA, M. et al. Polymeric micelle nanocarriers for the cutaneous delivery of tacrolimus: A targeted approach for the treatment of psoriasis. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 9, p. 2989–3001, 2014.

LEITE-SILVA, V. R. et al. Human skin penetration and local effects of topical nano zinc oxide after occlusion and barrier impairment. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 104, p. 140–147, 2016.

LEONG, H. J. et al. Preparation of alpha-bisabolol and phenylethyl resorcinol/TiO2 hybrid composites for potential applications in cosmetics. **International Journal of Cosmetic Science**, p. 524–534, 2016.

LEVI, K. UV damage and sun care: Deciphering mechanics of skin to develop next generation therapies. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 28, p. 471–473, 2013.

LHIAUBET-VALLET, V. et al. Filter-filter interactions. Photostabilization, triplet quenching and reactivity with singlet oxygen. **Photochemical & photobiological sciences**, v. 9, n. 4, p. 552–558, 2010.

LI, C. C. et al. Improvement in UV protection retention capability and reduction in skin penetration of benzophenone-3 with mesoporous silica as drug carrier by encapsulation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 148, p. 277–283, 2015.

LIAO, C.; KANNAN, K. Widespread Occurrence of Benzophenone-Type UV Light Filters in Personal Care Products from China and the United States: An Assessment of Human Exposure. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 7, p. 4103–9, 2014.

LIÉDANA, N. et al. One-step encapsulation of caffeine in SBA-15 type and non-ordered silicas. **Chemical Engineering Journal**, v. 223, p. 714–721, 2013.

LÓPES, T. et al. Encapsulation of valproic acid and sodic phenytoin in ordered mesoporous SiO2 solids for the treatment of temporal lobe epilepsy. **Optical Materials**, v. 29, n. 1, p. 75–81, 2006.

LUEPKE, N. P.; KEMPER, F. H. The HET-CAM test: An alternative to the draize eye test. **Food and Chemical Toxicology**, v. 24, n. 6–7, p. 495–496, jun. 1986.

MAIER, H. et al. Ultraviolet protective performance of photoprotective lipsticks: Change of spectral transmittance because of ultraviolet exposure. **Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine**, v. 21, n. 2, p. 84–92, 2005.

MARCATO, P. D. et al. Nanostructured polymer and lipid carriers for sunscreen. Biological effects and skin permeation. **Journal of nanoscience and nanotechnology**, v. 11, p. 1880–1886, 2011.

MARIANO-NETO, F. et al. Physical properties of ordered mesoporous SBA-15 silica as immunological adjuvant. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 47, n. 42, p. 425402, 2014.

MATOS, J. R. et al. Toward the synthesis of extra-large-pore MCM-41 analogues. **Chemistry of Materials**, v. 13, n. 5, p. 1726–1731, 2001.

MIKSA, S. et al. New approach for a reliable in vitro sun protection factor method - Part II: Practical aspects and implementations. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 38, n. 5, p. 504–511, out. 2016.

MORABITO, K. et al. Review of sunscreen and the emergence of non-conventional absorbers and their applications in ultraviolet protection. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 33, n. 5, p. 385–390, 2011.

MORITZ, M.; LANIECKI, M. Application of SBA-15 mesoporous material as the carrier for drug formulation systems. Papaverine hydrochloride adsorption and release study. **Powder**

Technology, v. 230, p. 106–111, 2012.

MORLANDO, A. et al. Titanium doped tin dioxide as potential UV filter with low photocatalytic activity for sunscreen products. **Materials Letters**, v. 171, p. 289–292, 2016.

NATIONAL INSTITUTE OF ENVIRONMENTAL HEALTH SCIENCES (NIEHS). **ICCVAM TEST METHOD EVALUATION REPORT: In vitro Ocular Toxicity Test Methods for Identifying Severe Irritants and Corrosives. NIH Publication No: 07-4517**.

NETO, H. S. et al. Inclusion of prednicarbate in the SBA-15 silica. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, n. 3, p. 2297–2305, 2016.

NETO, H. S.; NOVÁK, C.; MATOS, J. R. Thermal analysis and compatibility studies of prednicarbate with excipients used in semi solid pharmaceutical form. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 1, p. 367–374, 2009.

NIKOLIĆ, S. et al. Skin photoprotection improvement: Synergistic interaction between lipid nanoparticles and organic UV filters. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 414, n. 1–2, p. 276–284, jul. 2011.

NISHIKAWA, D. D. O. et al. Stability and efficacy of sunscreens containing inorganic filters and quercetin. **Biomedical and Biopharmaceutical Research**, v. 10, n. 1, p. 91–100, 2013.

OECD. ENVIRONMENT DIRECTORATE JOINT MEETING OF THE CHEMICALS COMMITTEE AND THE WORKING PARTY ON CHEMICALS, PESTICIDES AND BIOTECHNOLOGY. n. 156, 2011.

OLIVEIRA, C. A. DE et al. Cutaneous biocompatible rutin-loaded gelatin-based nanoparticles increase the SPF of the association of UVA and UVB filters. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, p. 1–9, 2016.

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

PERUCHI, L. M.; RATH, S. Development and application of a HPLC method for eight sunscreen agents in suncare products. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 34, n. 3, p. 226–233, jun. 2012.

PERUGINI, P. et al. Effect of nanoparticle encapsulation on the photostability of the sunscreen agent, 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 246, n. 1–2, p. 37–45, 2002.

PINNELL, S. R. et al. Microfine zinc oxide is a superior sunscreen ingredient to microfine titanium dioxide. **Dermatologic Surgery**, v. 26, n. 4, p. 309–314, 2000.

POTARD, G. et al. The Stripping Technique: In vitro Absorption and Penetration of Five UV Filters on Excised Fresh Human Skin. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 13, n. 6, p. 336–344, 2000.

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

QIU, X. et al. Studies on the Drug Release Properties of Polysaccharide Multilayers Encapsulated Ibuprofen Microparticles. **Langmuir**, v. 17, n. 17, p. 5375–5380, 3 ago. 2001.

ROSCHER, N. M. et al. Photodecomposition of several compounds commonly used as sunscreen agents. **Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry**, v. 80, n. 1–3, p. 417–421, 1994.

SALVADOR, A.; DE LA OSSA, M. D.; CHISVERT, A. Determination of butyl methoxydibenzoylmethane, benzophenone-3, octyl dimethyl PABA and octyl methoxycinnamate in lipsticks. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 25, n. 3, p. 97–102, 2003.

SAMBANDAN, D. R.; RATNER, D. Sunscreens: An overview and update. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 64, n. 4, p. 748–758, 2011.

SANDBY-MØLLER, J.; POULSEN, T.; WULF, H. C. Epidermal Thickness at Different Body Sites: Relationship to Age, Gender, Pigmentation, Blood Content, Skin Type and Smoking Habits. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 83, n. 6, p. 410–413, 1 nov. 2003.

SCALIA, S.; MEZZENA, M. Photostabilization effect of quercetin on the UV filter combination, butyl methoxydibenzoylmethane-octyl methoxycinnamate. **Photochemistry and Photobiology**, v. 86, n. 2, p. 273–278, 2010.

SEKKAT, N.; KALIA, Y. N.; GUY, R. H. Biophysical study of porcine ear skin in vitro and its comparison to human skin in vivo. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 11, p. 2376–2381, 2002.

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. 3, p. 794–802, 2007.

SHAATH, N. A. Ultraviolet filters. **Photochemical & photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology**, v. 9, n. 4, p. 464–469, 2010.

SILVA, F. et al. European Journal of Pharmaceutical Sciences Evaluation of critical parameters for in vitro skin permeation and penetration studies using animal skin models. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 111, n. April 2017, p. 121–132, 2018.

SMIJS, T.; PAVEL. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. **Nanotechnology, Science and Applications**, v. 4, n. 1, p. 95, out. 2011.

SONG, D. et al. Prediction of hydrodynamic and optical properties of TiO2/water suspension considering particle size distribution. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 92, p. 864–876, 2016.

SPRINGSTEEN, A. et al. In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance. **Analytica Chimica Acta**, v. 380, n. 2–3, p. 155–164, 1999.

STEILING, W. et al. The HET-CAM, a useful in vitro assay for assessing the eye irritation properties of cosmetic formulations and ingredients. **Toxicology in Vitro**, v. 13, n. 2, p. 375–384, 1999.

TANG, Y. et al. Temperature difference effect induced self-assembly method for Ag/SBA-15 nanostructures and their catalytic properties for epoxidation of styrene. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 215, p. 199–205, 2015.

TANNER, P. R. **Sunscreen product formulationDermatologic Clinics**, jan. 2006.

TROTTA, V. et al. Influence of lipid microparticle encapsulation on in vitro efficacy, photostability and water resistance of the sunscreen agents, octyl methoxycinnamate and butyl methoxydibenzoylmethane. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 40, n. 9, p. 1233–1239, 9 set. 2014.

UHRICH, K. E. et al. Polymeric Systems for Controlled Drug Release. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 11, p. 3181–3198, nov. 1999.

UNITED STATES. Food and Drug Administration. Department of Health and Human Services. 21 CFR Parts 201 and 310. **Labeling and effectiveness testing; sunscreen drug products for over-the- counter human use**. Federal Register. v. 76, n. 117, 2011.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. **Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation**. n. September, 2013.

VALLET-REGI, M. et al. A New Property of MCM-41: Drug Delivery System. **Chemistry of Materials**, v. 13, n. 2, p. 308–311, fev. 2001.

VELASCO, M. V. R. et al. Associação da Rutina com p-Metoxicinamato de Octila e Benzofenona-3: Avaliação In Vitro da Eficácia Fotoprotetora por Espectrofotometria de Refletância. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 1, p. 23–27, 2008a.

VELASCO, M. V. R. et al. Broad spectrum bioactive sunscreens. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 363, n. 1–2, p. 50–57, 2008b.

VILLALOBOS-HERNÁNDEZ, J. R.; MÜLLER-GOYMANN, C. 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. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 322, n. 1–2, p. 161–170, 2006.

VILLALOBOS-HERNÁNDEZ, J. R.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. In vitro erythemal UV-A protection factors of inorganic sunscreens distributed in aqueous media using carnauba wax-decyl oleate nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, n. 1, p. 122–125, 2007.

VOGT, A. et al. Morphometry of human terminal and vellus hair follicles. **Experimental Dermatology**, v. 16, n. 11, p. 946–950, 2007.

WANG, S. Q.; BALAGULA, Y.; OSTERWALDER, U. Photoprotection: A review of the current and future technologies. **Dermatologic Therapy**, v. 23, n. 1, p. 31–47, 2010.

WANG, Y. et al. Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 11, n. 2, p. 313–327, 2015.

WATKINSON, A. C. et al. Nanoparticles Do Not Penetrate Human Skin — A Theoretical

Perspective. p. 1943–1946, 2013.

WEIGMANN, H.-J. et al. Comparison of human and porcine skin for characterization of sunscreens. **Journal of biomedical optics**, v. 14, n. 2, p. 024027, 2009.

WILKINSON, J. B.; MOORE, R. J. **Harry's Cosmeticology**. 7. ed. New York: Chemical publishing, 2011.

WILSON, T. D.; STECK, W. F. Research Section A modi ® ed HET ± CAM assay approach to the assessment of anti-irritant properties of plant extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 867–872, 2000.

WU, P.-S. et al. Effects of the novel poly(methyl methacrylate) (PMMA)-encapsulated organic ultraviolet (UV) filters on the UV absorbance and in vitro sun protection factor (SPF). **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 131, p. 24–30, fev. 2014.

XIANG, Y.; LU, S.; JIANG, S. P. Layer-by-layer self-assembly in the development of electrochemical energy conversion and storage devices from fuel cells to supercapacitors. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 21, p. 7291, 2012.

ZAFRA-GÓMEZ, A.; BALLESTEROS, O.; NAVALÓN, A. Talanta Determination of benzophenone-UV fi lters in human milk samples using ultrasound-assisted extraction and clean-up with dispersive sorbents followed by UHPLC – MS / MS analysis. v. 134, p. 657–664, 2015.

ZHAO, D. et al. Nonionic triblock and star diblock copolymer and oligomeric sufactant syntheses of highly ordered, hydrothermally stable, mesoporous silica structures. **Journal of the American Chemical Society**, v. 120, n. 24, p. 6024–6036, 1998a.

ZHAO, D. et al. Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores. **Science (New York, N.Y.)**, v. 279, n. 5350, p. 548–52, 1998b.

ZHU, Y. F. et al. Storage and release of ibuprofen drug molecules in hollow mesoporous silica spheres with modified pore surface. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 85, n. 1–2, p. 75–81, 2005.

ZHURAVLEV, L. T. The surface chemistry of amorphous silica. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 173, p. 1–38, 2000.

ZUBRZYCKI, R.; RESSLER, T. Influence of pore size of SBA-15 on activity and selectivity of H3[PMo12O40] supported on tailored SBA-15. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 214, p. 8–14, 2015.

8. APÊNDICE

8.1 Artigo 01

Cosmetics **2015**, *2*, 248-258; doi:10.3390/cosmetics2030248

OPEN ACCESS

cosmetics

ISSN 2079-9284

www.mdpi.com/journal/cosmetics

Article

Thermal Behavior and Free-Radical-Scavenging Activity of Phytic Acid Alone and Incorporated in Cosmetic Emulsions

André Luis Máximo Daneluti [1,*], Maria Valéria Robles Velasco [1], André Rolim Baby [1] and Jivaldo do Rosário Matos [2]

[1] School of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo (FCF–USP), Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Cidade Universitária, São Paulo 05508-000, Brazil; E-Mails: mvrobles@usp.br (M.V.R.V.); andrerb@usp.br (A.R.B.)

[2] Chemistry Institute, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, Cidade Universitária, São Paulo 05513-970, Brazil; E-Mail: jdrmatos@gmail.com

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: al.danelut@usp.br or al.danelut@gmail.com; Tel.: +55-11-3091-2695.

Academic Editor: Martina Meinke

Received: 15 May 2015 / Accepted: 21 July 2015 / Published: 31 July 2015

Abstract: Phytic acid is a natural compound widely used as depigmenting agent in cosmetic emulsions. Few studies are available in the literature covering the stability and the antioxidating property of this substance, used alone or into emulsions. Therefore, the purpose of this work was to investigate the thermal behavior and antioxidant properties of phytic acid alone and into cosmetic emulsions. The thermal behavior of this substance was evaluated by thermogravimetry (TG)/derivative thermogravimetry (DTG) and differential scanning calorimetry (DSC) and the free-radical-scavenging activity by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). TG/DTG and DSC curves allowed evaluation of the thermal behavior of phytic acid. These results showed that the substance presented four stages of mass loss. Thermal decomposition of the material initiated at 150 °C. Thermal behavior of the cosmetic emulsions detected that the addition of phytic acid decreased the thermal stability of the system. DPPH free-radical-scavenging activity showed that phytic acid incorporated into emulsion had no antioxidant capacity compared to BHT. In summary, we concluded that the thermoanalytical techniques (TG and DSC) were efficient and reliable in the characterization of phytic acid alone and incorporated into cosmetic emulsions.

Keywords: phytic acid; cosmetic emulsions; thermal analysis; DPPH

1. Introduction

Phytic acid (myo-inositol hexaphosphate, IP6) is a potent inhibitor of iron-catalyzed hydroxyl radical formation as it chelates the free iron and then blocks its coordination site [1]. Furthermore, due to its antioxidant properties, it is widely used as a nutritional supplement [2]. Several studies have uncovered its antioxidant activity in meat products, protective effects against oxidative damage in emulsions and, as a result, have led to an enhancement of shelf life for these products [3]. Currently, phytic acid is largely used as a depigmenting agent, acting through the inhibition of tyrosinase (by chelating copper and iron ions [4], and also as an antioxidant to bleach hyperchromic spots. For this reason, phytic acid has been widely used in cosmetic emulsions as an antioxidant for skin care products [5].

Thermal analysis is one of the most widely used techniques in the studies of characterization. It consists of a number of techniques for measuring the physical property of a substance or its reaction products, whilst subjecting the substance to a controlled temperature program [6].

Thermoanalytical techniques, such as differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry and derivative thermogravimetry (TG/DTG), are extremely important for evaluating the stability and processes of thermal decomposition of materials. They are important in the studies of pre-formulation of drugs, because they allow the investigation of potential physical and chemical interactions between drugs and pharmaceutical adjuvants [7–9]. Few works are available that investigate the stability and the antioxidating property of this substance, used alone or in the presence of adjuvants. Recently, our group investigated the thermal behavior of phytic acid. We concluded that this substance when heated to 150 °C approximately for one hour, showed thermal decomposition. The resulting solution was colorless and became brown [10]. Khattab *et al.* (2010) [11] also evaluated phytic acid and other bioactive components of canola seeds, and determined the free-radical-scavenging activity of phytic acid by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). The authors concluded that phytic acid showed optimal DPPH-scavenging activity, the highest antioxidant effect observed followed by condensed tannins and chlorophyll. In another study, Carli *et al.* (2006) [12] evaluated the thermal behavior of phytic acid and complexation with Ni (II) and concluded that this form of dipotassium salt allowed eight sites of protonation. In a system of phytic acid with Ni (II), seven stability constants were previously obtained, which revealed that the more the phytic acid was deprotonated, stronger was the interaction with the ion Ni (II).

The purpose of this work was investigated additional information about the thermal behavior of phytic acid alone and also incorporated into cosmetic emulsion by thermogravimetry (TG)/derivative thermogravimetry (DTG) and differential scanning calorimetry (DSC). Additionally, it evaluated the antioxidant potential of this substance alone and incorporated emulsions by DPPH.

2. Experimental Section

2.1. Materials

Absolute ethanol was purchased from Labsynth (São Paulo, Brazil). DPPH was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Phytic acid, a product originating from China, was supplied by a distributor. According to the distributor, the sample was a minimum 50% (*w*/*w*) solution in water. Two cosmetic emulsions were prepared containing the ingredients described in Table 1. Phytic acid and butylated hydroxytoluene (BHT), when added into the emulsion systems, were used at 5.0% and 0.05% *w*/*w*, respectively. The two emulsions were identical except for one component (BHT), which was only used in the first emulsion.

Table 1. Components, suppliers and composition (weight %) of the prepared cosmetic formulation.

Components (INCI)	Suppliers	% (*w*/*w*)
Phytic acid	Allchemistry® (São Paulo, Brazil)	5.0
Cetearyl alcohol, ceteth10, lanolin Alcohol and hydrocarbon	Henrifarma® (São Paulo, Brazil)	20
Ethoxylated lanolina	Galena® (Campinas, Brazil)	5.0
Cyclopentasiloxane	Daltomare® (São Paulo, Brazil)	2.5
Polydimethylsiloxane fluid	Daltomare® (São Paulo, Brazil)	1.0
BHT	Vital Especialidades® (São Paulo, Brazil)	0.05
Propylparaben	Pharma Nostra® (Campinas, Brazil)	0.08
Methylparaben	Pharma Nostra® (Campinas, Brazil)	0.15
Disodium dihydrogen ethylenediaminetetraacetate (EDTA)	All Chemistry® (São Paulo, Brazil)	0.1
Imidazolidinyl urea	ISP® (São Paulo, Brazil)	0.1
Propyleneglycol	Sarfam® (São Paulo, Brazil)	3.0
Water	Merck Millipore® Mili-Q® Simplicity UV (Darmstadt, Germany)	–

INCI = International Nomenclature of Cosmetic Ingredients.

2.2. Methods

2.2.1. Thermal Analysis

Thermal characterization of phytic acid alone and incorporated into the cosmetic emulsion were performed using a calorimetric cell, model DSC–50, and a thermobalance, model TGA–51 (Shimadzu, Kyoto, Japan), using the following experimental conditions: (a) temperature ranged of from 25 to 500 °C (DSC) and 25 to 900 °C (TG); (b) heating rate (β) of 10 °C·min^{-1}; (c) dynamic atmosphere of N_2 (DSC) and air (TG) at a flow rate of 100 mL·min^{-1}; (d) partially closed Al crucibles (DSC) and Pt crucibles (TG); (e) sample mass of approximately 2.0 mg for the DSC experiment, and of approximately 15.0 mg for the TG experiment. A TG curve for the empty crucible was obtained for each experimental condition used in non-isothermal tests (blank curves) and subtracted from each result obtained under the same conditions. Verification of the gain or loss of mass was performed using a sample of calcium oxalate

$CaC_2O_4 \cdot H_2O$, which exhibited three well-defined mass losses. For the DSC experiments, calibration data of the calorimetric cell were checked using standard samples of Zn and In. For the temperature axis, the melting temperatures of both metals had to be taken into account: 156.6 °C and 419.5 °C, respectively. For the heat flow, the expected value for the enthalpy of fusion of In was 28.5 J/g.

2.2.2. DPPH Free Radical Scavenging Test

DPPH free radical scavenging test was performed on the following samples: emulsion with BHT (EM/BHT); emulsion with BHT and phytic acid 5% (EM/PHYT/BHT); emulsion phytic acid 5% without BHT (EM/PHYT); blank emulsion without BHT (EM/BL); and ethanolic solution of phytic acid 5% (*v*/*v*) (ET/PHYT). To determine the DPPH radicals scavenged, 50 µL of 5% phytic acid ethanolic solution and 0.5 g of cosmetic emulsions were dissolved in 2.5 mL of 0.90 mM DPPH solution in ethanol [13]. All samples were analyzed in triplicate. The absorbance values were measured at 517 nm in Ultraviolet-visible spectrophotometry (Thermo Scientific® Evolution 600, Waltham, MA, USA), after thirty minutes in the dark and converted into the percentage of free radical scavenging (%FRS) using the following equation [14,15]:

$$\%\text{FRS} = \frac{\left(Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{sample}}\right) \times 100}{Abs_{\text{control}}} \quad (1)$$

Legend: %FRS: Percentage of free radical scavenging; Abs_{control}: Absorbance of negative control sample; Abs_{sample}: Absorbance of samples.

2.2.3. Statistical Analysis

Data were analyzed using a one factor analysis of variance (ANOVA) and Tukey mean separation for multiple comparisons with MINITAB® Version 16 (State College, PA, USA).

3. Results and Discussion

3.1. Thermal Analysis

The TG/DTG plots for phytic acid (Figure 1) show four events of mass loss. The first event, with 40.8%, occurred between 25 and around 160 °C (DTG T_{peak} = 83 °C), and it corresponds to the removal of water present in the sample, as indicated by supplier. However, our group investigated that when this substance was maintained at a 150 °C signs of carbonization could be observed. The carbonization process indicates the beginning of the thermal decomposition process, this fact was not observed in the TG/DTG curves. After one hour, the solution became brownish, and after 24 h at the same temperature turned black [10]. The second event occurred between 162 and 292 °C with Δm = 5.5%. The expansion of the DTG curve over this temperature range (inserted in Figure 1) showed at least two events of mass loss (T_{peak} = 222 and 256 °C). The third event occurred between 248 and 447 °C with Δm = 9.2% (DTG T_{peak} = 364 °C). The second and third events could be attributed to the carbonization process and dehydration due to the decomposition of OH groups that were contained in the acid. The fourth event occurred between 447 and 863 °C (Δm = 41.5% and DTG T_{peak} = 648 °C) and it was due to the process

of thermal decomposition of phytate groups and the elimination of elemental carbon formed in the previous steps. At the temperature of 870 °C, the accumulated mass loss was 97%.

The DSC curve showed an endothermic event between 21 and 120 °C, characteristic of the elimination of water (T_{peak} = 48.17 °C). The second event was endothermic and could be attributed to the onset of thermal decomposition due to carbonization of the sample and removal of the OH groups from the acid (T_{peak} = 156.9 °C). The third event observed in the DSC curve was exothermic (T_{peak} = 325.5 °C) and corresponded to the third mass loss shown in the TG/DTG curves. Carli *et al.* (2006) [12] had evaluated the thermal behavior of phytic acid as dipotassium salt ($K_2C_6H_{18}P_6O_{24}$) and they had identified a sample mass loss in three stages TG/DTG and the DSC profile had occurred in three thermic events. However, we found four stages of mass loss in TG/DTG curves, which could be related to the use of phytic acid in an aqueous solution.

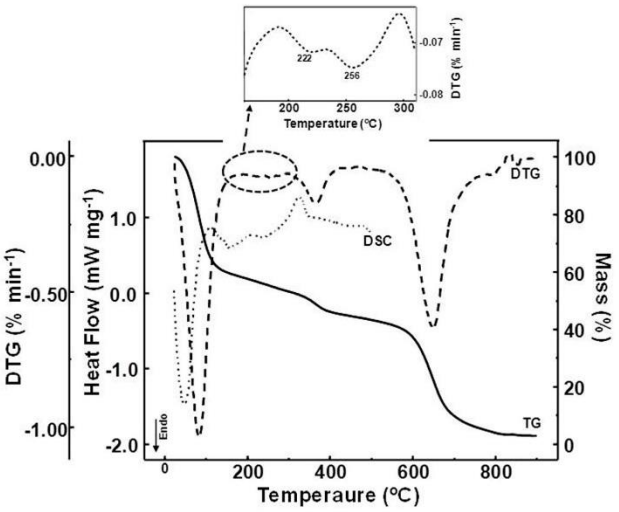


Figure 1. TG/DTG and DSC curves of phytic acid.

Figures 2 and 3 illustrate the TG/DTG and DSC curves of the two emulsions and the adjuvants of highest volumes. TG/DTG curves of emulsion without this substance developed three mass loss events, the first around 25 °C to 101 °C, with mass loss of 45.7% (peak temperature DTG $T_{peak\ DTG}$ = 86 °C). This event characterized the elimination of free or loosely bound water in the emulsion. The second stage partially overlapped the first one, between 104 °C and 150 °C, with a mass loss of 21.8% ($T_{peak\ DTG}$ = 114 °C), and could be attributed to the removal of more strongly bound water. The total mass loss at 150 °C was about 68%, which was compatible with the water content of the emulsion of approximately 70.0%. During the third and final step, the part related to the emulsion oil phase was processed between 154 °C and 313 °C, with a mass loss of 31.3%. This event could be attributed to the volatilization process of the most adjuvants, Cetearyl alcohol-ceteth10 (CCLH) and ethoxylated lanolin. By comparing the results of the first stage of DTG curve mass loss, it was possible to determine that the emulsion of phytic acid showed a lower stability over the active-free emulsion.

DSC curves (Figure 3) showed overlapping endothermic events between 25 °C and approximately 110 °C and T_{peak} = 55.9 °C. These events were caused by the elimination of water from the total emulsion system, as well as by the melting and volatilization of formulation components. However, from DTG curves of the emulsion with phytic acid and from the reduction of DTG peak temperature ($T_{peak\ DTG}$) we determined that the overlapping endothermic events could be related to the decrease of emulsion thermal stability. DSC curves of the emulsion of this substance (Figure 3) also revealed a decrease of the extrapolated peak onset temperature ($T_{onset\ DSC}$). Table 2 lists the values of $T_{onset\ DSC}$ and T_{peak} of curves DTG and DSC.

As previously mentioned, phytic acid has depigmentation activity, especially when combined with other bleaching compounds, such as hydroquinone. Due to the results described, the cosmetic formulators should be aware while incorporating this compound into emulsions since phytic acid decreases the thermal stability of these systems.

Table 2. Values of $T_{onset\ DSC}$ and T_{peak} of curves DTG and DSC of emulsions.

Emulsions	$T_{peak\ DTG}$ (°C) Stage 1	$T_{peak\ DTG}$ (°C) Stage 2	$T_{peak\ DTG}$ (°C) Stage 3	$T_{onset\ DSC}$ (°C)	$T_{peak\ DSC}$ (°C)
Without phytic acid	86	114	246	50	56
phytic acid	73	–	252	32	49

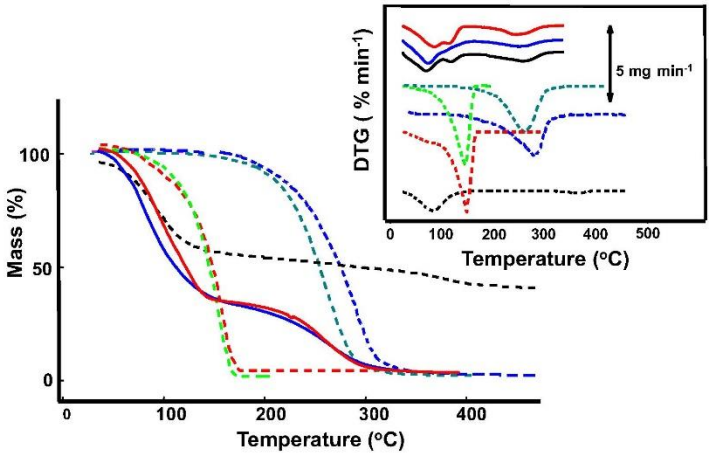


Figure 2. TG/DTG curves of the: ——— emulsion; ▬ ▬ ▪ phytic acid (5.0% *w*/*w*); - - - lanolin ethoxylated; - - - Cetearyl alcohol-ceteth10; - - - propyleneglycol; - - - cyclopentasiloxane; ——— emulsion phytic acid 5.0% (*w*/*w*).

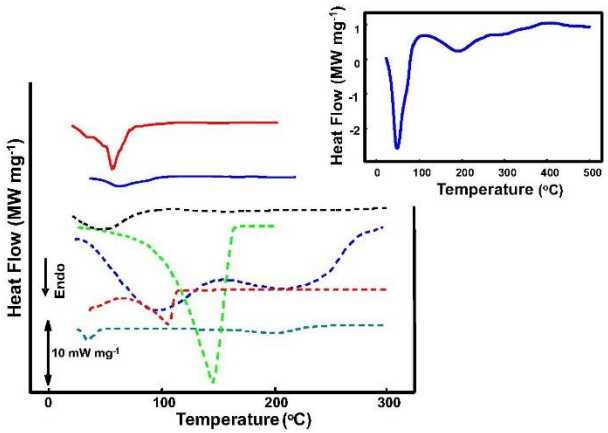


Figure 3. TG/DTG curves of the: emulsion; phytic acid (5.0% *w/w*); lanolin ethoxylated; Cetearyl alcohol-ceteth10; propyleneglycol; cyclopentasiloxane; emulsion phytic acid 5.0% (*w/w*).

3.2. DPPH Free Radical Scavenging Test

The ability of the samples to provide hydrogen was estimated using the DPPH free radical. In the presence of a hydrogen provider (scavenger), DPPH is reduced and a stable free radical is formed from the scavenger [16]. DPPH assay is one of the well-known frequently used methods to evaluate the free-radical-scavenging activity [17–19]. It has been widely used in model systems to investigate the scavenging activities of several natural compounds, such as phenolic compounds, anthocyanins, or crude mixtures, such as methanol extracts of plants [20,21]. Therefore, DPPH free-radical-scavenging was used to compare the scavenging effect of phytic acid alone and when incorporated into emulsions without or with BHT. Synthetic antioxidants such as BHT are often added in cosmetic emulsions as antioxidant. We used the BHT as a comparison to evaluate the antioxidant activity of phytic acid. The maximum absorbance of the DPPH ethanolic solution was attained at 517 nm. The method determines the antiradical power by measuring a decrease in the DPPH absorbance, resulting in color change from purple to yellow, when the DPPH is scavenged by an antioxidant molecule [11,22]. Few papers discuss the antioxidant activity of phytic acid alone or in emulsion. The choice of this method was due to the fact that DPPH presents less interference compared with other techniques, such as Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and Thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) [23]. Khatb *et al.* (2010) [11] observed that phytic acid DPPH-scavenging activity developed the highest antioxidant effect followed by condensed tannins and chlorophyll, presented in canola seeds (*Brassica napus L.* and *Brassica juncea L.*). Stodolak *et al.* (2007) [24] evaluated the effects of addition of phytic acid in extending the stability of beef and pork meat through TBARS assay. They established that phytic acid inhibited lipid peroxidation.

This study compared the DPPH free-radical-scavenging activity of phytic acid alone and incorporated into emulsions (Figure 4). The samples EM/BHT, EM/HPHYT/BHT, EM/HPHYT, EM/BL and

ET/HPHYT showed, respectively, scavenging activities of 97.6 ± 0.016, 96.1 ± 0.009, 36.0 ± 0.007, 10.7 ± 0.031 and 13.0 ± 0.010. No statistically significant difference occurred in the %FRS of EM/BHT and EM/HPHYT, indicating that phytic acid showed no antioxidant effect within emulsions with BHT. Statistical samples of EM/BL and ET/HPHYT were equal at a high significance level. On the other hand, the sample ET/HPHYT showed to be different from EM/HPHYT at a high level of significance. Our results indicated that phytic acid incorporated into emulsions had a higher scavenging efficiency compared to phytic acid in ethnolic solution, while BHT incorporated into emulsions presented higher antioxidant activity than phytic acid. These results corroborated with Ahnet *et al.* (2004) [25] who reported that phytic acid presented lower antioxidant activity than BHT and BHA. However, after irradiation, the radical-scavenging ability of this compound increased. Additionally, the same authors concluded that phytic acid significantly reduced the TBARS values, especially in oil emulsions [26,27]. In this context, phytic acid had a protective action, inhibiting lipid peroxidation. It would, therefore, be interesting to further study its interaction when incorporated into emulsions. In addition, this compound might provide an antioxidant effect on the skin tissue.

In contrast to these findings, our results demonstrated that phytic acid decrease the thermal stability of emulsions. The most likely explanation for this contrasting conclusion is that the applied techniques (TG/DTG and DSC) use temperatures above emulsion storage temperature. This is why these techniques accelerate the thermal decomposition process, leading to lipid peroxidation. Moreover, phytic acid has low pH and this may decrease the stability of the emulsion.

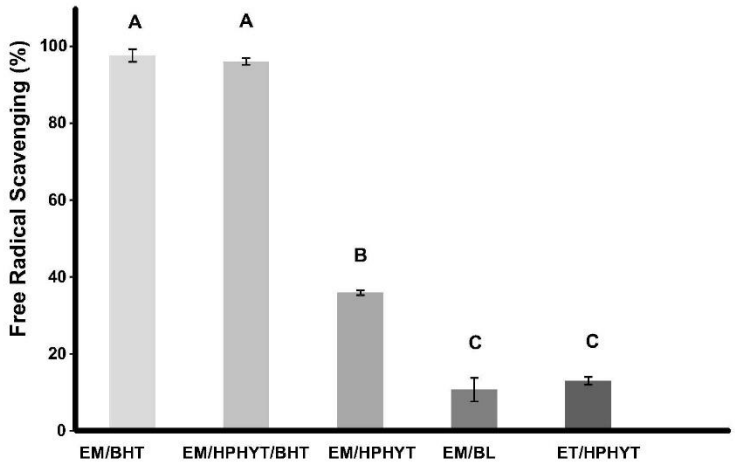


Figure 4. Free radicals scavenging of samples: EM/BHT, EM/HPHYT/BHT, EM/HPHYT, EM/BL and ET/HPHYT. Results of antioxidant activity expressed as mean ± standard deviation. Different letters above the bars represent statistically significant differences between groups. The results were evaluated according to the One-Way ANOVA statistical test, followed by Tukey test for comparison between groups (significance level = 0.05).

4. Conclusions

We concluded that thermal analysis is an effective and reliable technique to evaluate the stability of emulsions and the characterization of the thermal behavior of phytic acid. The changes in the thermoanalytical profiles in the DSC and TG/DTG allowed us to conclude that the addition of phytic acid decreases the thermal stability of emulsions. DPPH results demonstrated that phytic acid has a lower antioxidant capacity compared to BHT in emulsions. Furthermore, this study evaluated other components, which enhanced the stability of formulations containing phytic acid.

Acknowledgments

The authors would like to express their appreciation to Professor Dr. Carlota Rangel Yugi by encouraging the writing of this article. Additionally, we would like to thank to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Author Contributions

André Luis Máximo Daneluti contributed to the experimental and theoretical parts of this work. André Rolim Baby, Maria Valéria Robles Velasco and Jivaldo do Rosário Matos contributed with this manuscript scientific supervising and editing.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Graf, E.; Empson, K.L.; Eaton, J.W. Phytic acid. A natural antioxidant. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 11647–11650.
2. Urbano, G.; Lopez-Jurado, M.; Aranda, D.; Vidal-Valverde, C.; Tenório, E.; Porres, J. The role of phytic acid in legumes: Antinutrient or beneficial function? *J. Physiol. Biochem.* **2000**, *56*, 283–294.
3. Empson, K.L.; Labuza, T.P.; Graf, E. Phytic acid as a food antioxidant. *J. Food Sci.* **1991**, *56*, 560–563.
4. Arocha, J.R. Nuevas opciones en el tratamiento del melasma. *Dermat. Venez.* **2003**, *41*, 11–14. (In Spanish)
5. Manosroi, A.; Chutoprapat, R.; Sato, Y.; Miyamoto, K.; Hsueh, K.; Abe, M.; Manosroi, W.; Manosroi, J. Antioxidant activities and skin hydration effects of rice bran bioactive compounds entrapped in niosomes. *J. Nanosci. Nanotech.* **2011**, *11*, 2269–2277.
6. Matos, J.R.; Mercuri, L.; Barros, G. Análise térmica aplicada a fármacos e medicamentos. In *Biofarmacotécnica*; Storpirtis, S., Ed.; Editora Guanabara Koogan S/A: Rio de Janeiro, Brazil, 2009; pp. 32–48. (In Portuguese)

7. Araújo, A.A.S.; Storpirtis, S.; Mercuri, L.P.; Carvalho, F.M.S.; Santos Filho, M.; Matos, J.R. Thermal analysis of the antiretroviral Zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with adjuvant used in solid dosage forms. *Int. J. Pharm.* **2003**, *206*, 303–314.
8. Tomassetti, M.; Catalani, A.; Rossi, V.; Vecchio, S. Thermal analysis study of interaction between acetoaminophen and excipients in solid dosage forms and in some binary mixtures. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *375*, 949–955.
9. Giron, D. Applications of thermal analysis in the pharmaceutical industry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1986**, *4*, 755–770.
10. Daneluti, A.L.M.; Matos, J.R. Study of thermal behavior of phytic acid. *Bras. J. Pharm. Sci.* **2013**, *49*, 275–283.
11. Khattab, R.; Goldenberg, E.; Lin, L.; Thiyam, U. Quantitative analysis and free-radical-scavenging activity of chlorophyll, phytic acid, and condensed tannins in canola. *Food Chem.* **2010**, *122*, 1266–1272.
12. Carli, D.L.; Rosso, N.D.; Schnitzler, E.; Carneiro, P.I.B. Estudo da estabilidade do ácido fítico e o íon Ni(II). *Cienc. Tecnol. Aliment.* **2006**, *26*, 19–26. (In Portuguese)
13. Hatano, T.; Kagawa, H.; Yasuhara, T.; Okuda, T. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: Their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 2090–2097.
14. Bondet, V.; Brand-Williams, W.; Berset, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH· free radical method. *Food Sci. Technol.* **1997**, *30*, 609–615.
15. Velasco, M.V.R.; Balogh, T.S.; Pedriali, C.A.; Sarruf, F.D.; Pinto, C.A.S.O.; Kaneko, T.M.; Baby, A.R. Associação da rutina com *p*-metoxicinamato de octila e benzofenona-3: Avaliação *in vitro* da eficácia fotoprotetora por espectrofotometria de refletância. *Lat. Am. J. Pharm.* **2008**, *27*, 23–27. (In Portuguese)
16. Rival, G.S.; Boeriu, C.G.; Wichers, H.J. Caseins and casein hydrolysates. 2. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 295–302.
17. Sarojini, B.K.; Vidyagayatri, M.; Darshanraj, C.G.; Bharath, B.R.; Manjunatha, H. DPPH scavenging assay of novel 1,3-disubstituted-1H-pyrazol-5-ols and their in silico studies on some proteins involved in Alzheimer's disease signaling cascade. *Lett. Drug Des. Discov.* **2010**, *7*, 214–224.
18. Szabo, M.R.; Iditoiu, C.; Chambre, D.; Lupea, A.X. Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *Chem. Pap.* **2007**, *61*, 214–216.
19. Zivkovic, J.; Mujic, I.; Zekovic, Z.; Vidovic, S.; Mujic, A.; Jokic, S. Radical scavenging, antimicrobial activity and phenolic content of *Castanea* sativa extracts. *J. Cen. Eur. Agric.* **2009**, *10*, 175–182.
20. Hu, C.; Kitts, D.D. Studies on the antioxidant activity of *Echinaceae* root extract. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1466–1472.
21. Sanchez-Moreno, C.; Larrauri, J.A.; Saura-Calixto, F.A. Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.* **1998**, *76*, 270–276.
22. Gulçin, I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci.* **2005**, *78*, 803–811.
23. Badarinath, A.V.; Mallikarjuna, K.R.A.; Chetty, C.M.S.; Ramkanth, S.; Rajan, T.V.S.; Gnanaprakash, K. A review on *in-vitro* antioxidant methods: Comparisions, correlations and considerations. *Int. J. PharmTech Res.* **2010**, *2*, 1276–1285.

24. Stodolak, B.; Starzynska, A.; Czyszczon, A.; Zyla, K. The effect of phytic acid on oxidative stability of raw and cooked meat. *Food Chem.* **2007**, *101*, 1041–1045
25. Ahn, H.-J.; Kim, J.-H.; Jo, C.; Kim, M.-J.; Byun, M.-W. Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity. *Food Chem.* **2004**, *88*, 173–178.
26. Graf, E.; Eaton, J.W. Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radic. Biol. Med.* **1990**, *8*, 61–69.
27. Lee, B.J.; Hendricks, D.G. Phytic acid protective against beef round muscle lipid peroxidation. *J. Food Sci.* **1995**, *60*, 241–244.

© 2015 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

8.2 Artigo 02

J Therm Anal Calorim (2018) 131:789–798
https://doi.org/10.1007/s10973-017-6265-9

Evaluation and characterization of the encapsulation/entrapping process of octyl methoxycinnamate in ordered mesoporous silica type SBA-15

André Luis Máximo Daneluti[1] · Francisco Mariano Neto[2] · Maria Valéria Robles Velasco[1] · André Rolim Baby[1] · Jivaldo do Rosário Matos[3]

Received: 25 July 2016 / Accepted: 6 March 2017 / Published online: 20 March 2017
© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2017

Abstract Encapsulating/entrapping UV filters into a SBA-15 matrix represents an interesting method to increase the photostability of filters. Octyl methoxycinnamate (OMC) is frequently used as an organic UVB filter in sun care products. However, this filter is unstable upon radiation and has the undesirable ability to permeate into the viable layers of the skin. Recognizing these issues, the aim of this research was to encapsulate/entrap OMC into SBA-15 and to characterize this material by physicochemical analytical techniques. Scanning electron microscopy proved to be an efficient tool to evaluate the structural morphology of SBA-15. The diffraction laser results showed that the particle size diameter of SBA-15 was 15.7 ± 0.46 μm. The decrease in the surface area and in mesoporous volume (*V*) observed in the nitrogen adsorption desorption isotherms of encapsulated/entrapped samples indicated that OMC was efficiently encapsulated/entrapped into SBA-15. Additionally, SAXS results showed that OMC did not affected the hexagonal structure of the mesoporous material and that OMC filled the SBA-15 pores. The FTIR spectrum of encapsulated/entrapped samples displayed characteristic absorption bands of free OMC, confirming the presence of this compound after loading. DTA curves of encapsulated/entrapped materials showed that the thermal stability of OMC was increased. On the other hand, DSC curves of encapsulated/entrapped materials demonstrated that thermal stability of OMC was not increased. Finally, thermogravimetric and elemental analysis were efficient tools to confirm the presence and the quantity of OMC into SBA-15.

Keywords SBA-15 · Octyl methoxycinnamate · Thermal analysis · Nitrogen isotherms · Encapsulation/entrapping

✉ André Luis Máximo Daneluti
al.danelut@usp.br; al.danelut@gmail.com

[1] Department of Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Av. Professor Lineu Prestes, 580/Bloco 15, São Paulo, SP CEP 05508-000, Brazil

[2] Institute of Physics, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

[3] Department of Fundamental Chemistry, Institute of Chemistry, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

Introduction

Chemical UV filters are molecules that are able to absorb ultraviolet radiation and, after, dissipate it less harmfully for the human being. For optimum performance and efficacy of a sunscreen, the first and foremost requirement is that UV filters must remain stable during the entire period of exposure. However, during dissipation reactions, UV-filter partial degradation can occur with consequent loss of efficacy and formation of photo degradation products, which may induce photoallergy, phototoxic reaction and skin irritation [1–4]. Additionally, UV filters may permeate through the skin tissue, reaching blood circulation and being excreted in urine [5–8].

Octyl methoxycinnamate (OMC), molecular structure illustrated in Fig. 1, is frequently used as an organic UVB filter in sun care products. Despite proven photo protection, some issues have been reported related to this compound. Several studies established that trans-OMC is unstable upon radiation, both in solution and in formulations [9, 10]. Moreover, OMC has the ability to permeate into the viable layers of the skin, causing interference with the endocrine system in humans [11].

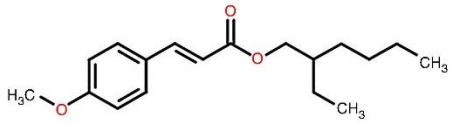


Fig. 1 Molecular structure of octyl methoxycinnamate

Recently, scientific research in this field has focused on developing new technologies to increase the safety of filters. Also, many potentially innovative carriers such as clays, mesoporous materials (MCM-41), cyclodextrins, polymers, gelatin nanoparticles and lipidic nanoparticles have been proposed [12–16].

The amorphous mesoporous silica (MCM-41, MCM-48, SBA-15, FDU-1 etc.) have been studied as drug carriers because of their nontoxic nature, their ordered mesoporous structure, their adjustable diameter and pore volume and their great superficial area with many silanol groups on the surface of the pores. Furthermore, these materials show high thermal, hydrothermal, chemical and mechanical stability, depending on the portion of wall thickness. The study of storage properties and drug release in mesoporous silica ordered as MCM-41 and SBA-15 indicated that the size and proper pore volume of these materials make them viable media for encapsulation, allowing subsequent release of a wide variety of molecules with therapeutic activity [17–19].

SBA-15 shows structural similarity with MCM-41, since both have hexagonal structure. However, SBA-15 has a higher pore size and thicker pore walls. In addition, its pore interconnectivity confers higher hydrothermal stability as well as better thermal and mechanical properties. This material is characterized by a surface area that may vary between 690 and 1040 $m^3\ g^{-1}$, pore volumes near 2.5 $cm^3\ g^{-1}$, pore diameter between 4.6 and 30 nm and wall thickness between 3.1 and 6.4 nm [8, 20–26].

Few existing studies have already established the effectiveness of encapsulating/entrapping UV filters in MCM-41, but there are no studies relating the use of SBA-15 as a carrier for UV filters. By the exposed, the aim of this research was to encapsulate/entrap OMC into SBA-15 and characterize these materials by physicochemical analytical techniques.

Materials and methods

Materials

Octyl methoxycinnamate was donated by Mapric (São Paulo). Acetone and hydrochloric acid were purchased from Synth (São Paulo). Pluronic® P123 poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymer (EO_{20}-$PO_{70}EO_{20}$) was donated by BASF (Germany), and tetraethylorthosilicate (TEOS) was acquired from Sigma-Aldrich (USA). All reagents were used as received, without any further purification.

Methods

SBA-15 synthesis

Ordered mesoporous silica was prepared through already established techniques [27]. The material was synthesized using triblock copolymer Pluronic® P123, as a structure directing agent, and tetraethylorthosilicate, as a silica source. The copolymer was dispersed in a highly acidic medium under magnetic stirring, and afterward TEOS was added dropwise into the solution. The following overall composition was: 1.0 TEOS/0.0167 P123/5.82 HCl/ 190H_2O. The mixture was transferred to a Teflon-lined autoclave and subjected to a hydrothermal treatment at 100 °C for 48 h. The final product was filtered, extensively washed with purified water and air-dried at room temperature, resulting in the as-synthesized material. A portion of this final powder was separated and denoted as SBA-15-as-syn. The rest of the as-synthesized material was submitted to calcination at 550 °C for 6 h under regular atmosphere, after a heating ramp of 1 °C min^{-1} under nitrogen.

Encapsulation/entrapping of OMC into SBA-15

SBA-15 was added into acetonic solution (~100 mL) of OMC. The proportions (w/w) between OMC and the SBA-15 are described in Table 1. Afterward, the suspensions were brought to equilibrium under gentle stirring for 48 h at room temperature. Solvent removal was performed at 25 °C, and this sample was dried in furnace at 40 °C [14, 28]. Additionally, in order to evaluate the encapsulation/entrapping efficiency process, physical mixture between OMC and SBA-15 (1:1) was made.

Characterization of the materials

The surface morphology of the SBA-15 particles was carried out by scanning electronic microscopy (SEM) (JEOL equipment, model JSM 7401F).

Table 1 Proportion rate (w/w) between OMC and the SBA-15

Samples	Proportion rate/w/w
SBA-15 e octyl methoxycinnamate (SBA-15/OMC)	2:1 (75:25%) 1:1 (50:50%)

SBA-15 particle size distribution was performed in a Particle Size Analyzer 1090 (Cilas, Orléans, France), and the wet method was used. Approximately 100 mg of SBA-15 was dispersed in 40 mL of distilled water. The dispersion was kept under stirring in ultrasound for 30 s. SBA-15 was prepared in replicates of five, and result was obtained in the form of percentages of $d(10\%)$ (μm)—10% of the particle distribution is below this value; $d(50\%)$ (μm)—50% of the distribution above this value and $d(90\%)$ (μm)—90% of the particle distribution is below this value [29].

Nitrogen adsorption isotherm measurements were taken in a Micromeritics ASAP 2020. All samples were degassed overnight at 35 °C in order to avoid degradation of the compounds in the silica. Data acquisition was performed with nitrogen at −196 °C, at pressures ranging from 10^{-6} to 0.995, relative to the saturation pressure of nitrogen, which was measured periodically during the analysis. Superficial areas (SBET) were calculated with the Brunauer–Emmett–Teller (BET) equation, and the pore size distribution was obtained through the Barrett–Joyner–Halenda (BJH) method with the Kruk–Jaroniec–Sayari (KJS) thickness equation. The position of the peak in pore size distributions was calculated with Gaussian approximation.

Small-angle X-ray scattering (SAXS) characterization was performed using a Bruker Nanostar instrument, equipped with a Genix3D X-ray source, Fox3D multilayer optics and two sets of scatter less slits, provided by Xenocs. Scattering curves were acquired with a Vantec2000 detector and integrated around the azimuthal angle using Bruker's SAXS package. Subsequently treatment, normalization to absolute scale and analysis of the data was performed with the SUPERSAXS package.

Fourier transform infrared (FTIR spectra) of the samples was recorded at room temperature in the range of 4000–400 cm^{-1}. All measured samples were dried, and the powders were dispersed in KBr pressed to a plate.

Thermogravimetry/thermogravimetry derivative (TG/DTG) and differential thermal analysis (DTA) curves were obtained with a TG/DTA system model DTG-50 (Shimadzu, Japan), using Pt pans with approximately 15-18 mg of encapsulated/entrapped samples and physical mixture and 10 mg of OMC, under dynamic air atmosphere (50 mL min^{-1}), at a heating rate (β) of 10 °C min^{-1}, from 25 to 900 °C. Differential scanning calorimetry (DSC) analysis was carried out in a DSC-50 cell (Shimadzu®) using Al pans with approximately 1.5 mg for OMC and SBA-15; and 2.8 mg for encapsulated/entrapped samples and physical mixture, under dynamic atmosphere of nitrogen (N_2) (100 mL min^{-1}), heated (β) at 10 °C min^{-1} from 25 to 600 °C. The DSC cell was calibrated with indium (melting point 156.6 °C and $\Delta H = 28.7$ J g^{-1}) and zinc (melting point 419.6 °C and $\Delta H = 115.8$ J g^{-1}) standards.

Carbon, hydrogen and nitrogen contents were determined by elemental analysis using a PerkinElmer analyzer (model 2400).

Results and discussion

The encapsulation/entrapping of OMC into SBA-15 was initially performed by dissolving the UV-filter in an adequate solvent (acetone). Among the most common loading procedures in mesoporous silicates, the solvent evaporation method was used [14, 16, 30, 31]. OMC is an ester formed from methoxycinnamic acid and (*RS*)-2-ethylhexanol. This UV-filter is colorless to pale yellow viscous liquid, oil soluble and freely soluble in organic solvents. Acetone was selected as the solvent due to its low dielectric constant and easy evaporation. Then, approximately 2.0 mL of OMC was dissolved in 2.5 mL of acetone, which resulted in a clear, colorless and transparent solution (Fig. 2).

In order to determine the morphology and particle size of mesoporous silica, SEM images were obtained with magnification of 1000 (A), 2500 (B) 5000 (C) and 10,000 (D) (Fig. 3). Samples showed similar macrostructure, with a rod-like morphology and the majority of the particle sizes ranging from 2.0 to 3.0 μm [27, 29, 31, 32].

Particle size distribution of SBA-15 was performed by a laser analyzer, and results are presented in groups corresponding to the particles of diameters from a given range.

Fig. 2 OMC solubility test in acetone

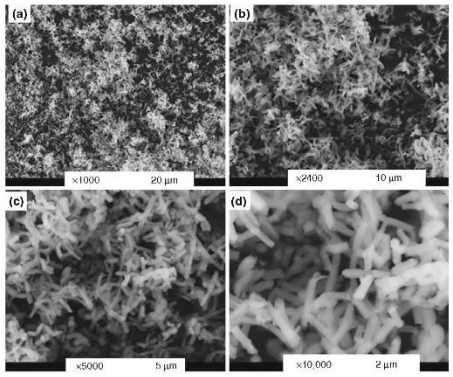


Fig. 3 Micrographs obtained by SEM of mesoporous silica type SBA-15. The images were registered at magnifications of: 1000 (**a**), 2500 (**b**) 5000 (**c**) and 10,000 (**d**)

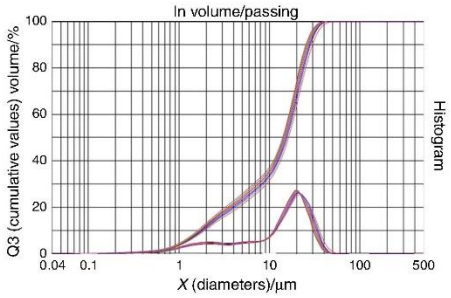


Fig. 4 Particle size distribution measurements of the sample SBA-15

Table 2 Particle size distribution data of mesoporous silica

Sample	d (0.1)/µm	d (0.5)/µm	d (0.9)/µm	d (m)/µm
SBA-15	1.8 ± 0.05	16.0 ± 0.37	29.0 ± 0.86	15.7 ± 0.46

d Diameter, d (m) diameter mean

Each peak in the histogram corresponds to a certain range of particle diameters, and the height of the peak indicates the percentage of particles of diameters from this range. Additionally, volume particle size distribution was evaluated, and statistical parameters of the distribution were calculated using the mathematically defined diameters of d type. Figure 4 illustrated particle size distributions for SBA-15, while Table 2 summarizes particle size diameters d(10%), d(50%), d(90%) and d(m). The particle size distribution was broad, which meant that mesoporous material contained particles of sizes varying in range, from 1.8 ± 0.05 µm d(10%) to 29.0 ± 0.86 µm d(90%) and the mean of particle size diameter was 15.7 ± 0.46 µm (Table 2) [20, 32].

Figure 5 shows the N_2 adsorption/desorption isotherms and pore size distribution of silica type SBA-15 and the samples obtained through the loading process. The isotherms were classified as type IV according to IUPAC, presenting H1-type hysteresis loops with sharp transitions for the adsorption and desorption branches (relative pressure from 0.6 to 0.8), indicative of a narrow distribution of mesopores in the frameworks and characteristic of a SBA-15 of good quality [20, 22, 27, 32, 33]. The specific surface area was evaluated with BET method (SBET). The pore diameter (D) and pore volume distribution (V) were also measured before and after the loading of OMC using BJH method. These parameters are presented in Table 3.

For the sample SBA-15/OMC 1:1 was observed that S_{BET} and V values decreased, respectively, 97 and 92% as a result of mesopores fulfilling by OMC molecules. In addition, Fig. 5 showed that the effect of loading process changed pore size distribution, further indicating that the filter molecules were packed inside the pore and uniformly distributed on the surface of mesoporous material. These results, associated with the shift observed of the nitrogen isotherm after loading (Fig. 4), originated by the reduction in total nitrogen amount adsorbed under different relative pressure values [14, 31], confirmed that the OMC was introduced inside the channels and, also, associated with the SBA-15 outer surface. The same effect was observed for SBA-15/OMC 2:1 sample, however, to a lesser extent. The total adsorbed amount of N_2 was less than the one on the pure SBA-15, but the curve still showed the distinct features of a type H1 hysteresis loop, indicating hexagonal pores. This effect was attributed to the partial coating of the silica surface by the OMC molecules, which decreased the sample pore size. Figure 5 shows the shift in the peak position attributed to this effect. The specific surface area and pore volume decreased in direct relation to the proportion between SBA-15 and OMC, while the mean pore diameter remains compatible for both samples. This was evidence that OMC formed a layer on the silica surface before further adsorption (and pore filling) takes place. The S_{BET} reduction value for this sample was 72 and 69% for the pore volume, in accordance with results reported by Ambrogi et al. [14], which encapsulated OMC into mesoporous silica type MCM-41 (1:2).

Figure 6 presents the X-ray scattering curves of SBA-15, OMC, encapsulated/entrapped samples (1:1 and 2:1) and physical mixture SBA-15/OMC 1:1. The curve of SBA-15 presented five interference peaks, indexed as (100), (110), (200), (210) and (300), characteristic of a p6 mm symmetry, which corresponds to the typical

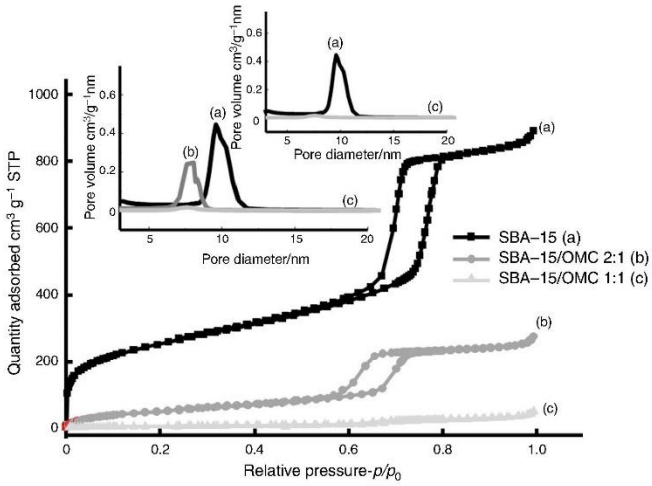


Fig. 5 Nitrogen adsorption/desorption isotherms results of SBA-15 and samples of SBA-15 with octyl methoxycinnamate

Table 3 Parameters derived from nitrogen adsorption data

Sample	S_{BET}/m^2 g^{-1}	Reduction S_{BET}/%	V/cm^3 g^{-1}	Reduction V/%	D/nm
SBA-15	913	–	1.05	–	9.8
SBA-15/OMC 2:1	198	78	0.43	59	7.8
SBA-15/OMC 1:1	24	97	0.08	92	7.6

All proportions are SBA-15:(OMC) in mass. Percentages are relative to SBA-15

bidimensional hexagonal lattice of this class of material. It can be inferred that peak width is heavily dependent on the scattering angle, and therefore peaks of higher order are expected to be broader. This effect is most evident for the (210) and (300) peaks. The curves of SBA-15/OMC (1:1) showed similar results compared to isolated SBA-15. However, a slight difference in relative peak intensities was observed, especially when peaks (110) and (200) were compared. This change reflects the partial filling of the pores in this sample. As expected, the position of the diffraction peaks showed that relative position of pores in the mesoporous materials was not affected by loading of OMC, since no variation in the lattice parameter was observed. The curve SBA-15/OMC (2:1) presented a different behavior to SBA-15/OMC (1:1). The background scattering presented a steeper descent, and relative peak intensities were very distinct.

The comparative assessment of SAXS and the N_2 adsorption/desorption isotherms showed that the pores of SBA-15 were capable to encapsulate the molecules of OMC. Additionally, the conjunction of these techniques allowed to indicate that SBA-15 had a hexagonal well-ordered network of regular and cylindrical mesopores [20, 30].

FTIR analyses of SBA-15, SBA-15/OMC (1:1 and 1:2), physical mixture and OMC are illustrated in Fig. 7. The spectra of all samples, except for free OMC, showed a stretching band at 3450 cm^{-1} corresponding to νOH groups. FTIR spectrum of SBA-15 showed intense typical bands around 1100 and 1200 cm^{-1}, which are characteristic of silica, as well as other bands relative to the bending modes of hydroxyl groups at 1630 cm^{-1} and at 950 cm^{-1} characteristic of the vibrations of Si–OH of terminal hydroxyl groups (silanols), which have an important role in the stability of the active substance in the matrix. It was also observed in the SBA-15 spectrum a band at 800 cm^{-1}, corresponding to the bending vibrations of the Si–O, and another at approximately 470 cm^{-1} assigned to the bridging bending modes of the O–Si–O [32, 34–36].

The OMC spectrum showed two absorption bands assigned to CH_3 group ($\nu_{as}CH_3$ asymmetric and ν_sCH_3 symmetric) at 2962 and 2872 cm^{-1}. In the same spectrum

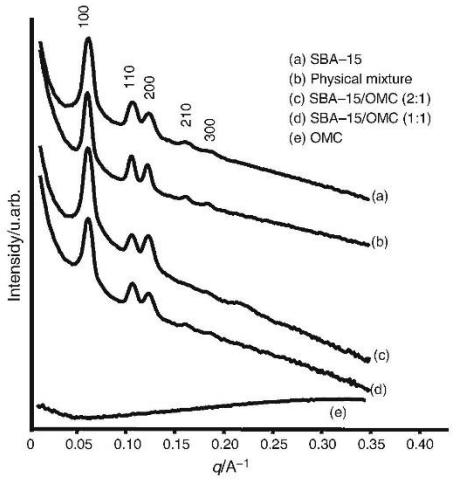


Fig. 6 SAXS curves obtained for samples with SBA-15 and OMC. The *curve* for SBA-15 was added for comparison

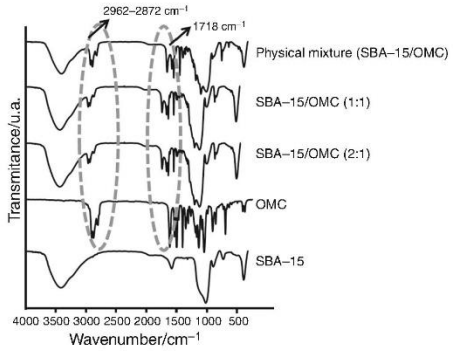


Fig. 7 FTIR spectra of OMC, encapsulated/incorporated materials and physical mixture of SBA-15

at 1718 cm^{-1}, a band was assigned to the asymmetric stretching of the C=O group of ester. At 1605 cm^{-1}, a vibration band was assigned to the deformation of C=C originated from an alkene group, also present in the molecular structure of this compound. In same spectrum, other typical bands of OMC were observed at 1463 cm^{-1} assigned to C=C group characteristic of aromatic ring; at 1253 cm^{-1} asymmetric deformation of C–O–C and at 1032 cm^{-1} symmetric deformation of the same group and at 983 cm^{-1} assigned to vibrations bands of C–H bond characteristic of aromatic ring [14].

The samples of SBA-15/OMC (1:1), SBA-15/OMC (2:1) and physical mixture showed two absorption bands assigned to CH_3 group ($\nu_{as}CH_3$ asymmetric and ν_sCH_3 symmetric) at 2962 and 2872 cm^{-1}. At 1718 cm^{-1}, it showed other UV-filter band assigned to the asymmetric stretching of the C=O group of ester. In addition, these spectra showed intensification of typical silica bands between 1300 and 1100 cm^{-1}. In the same spectra at 450 cm^{-1}, it was observed other typical SBA-15 band related to the bridging bending modes of the O–Si–O [14, 32].

TG/DTG was used to evaluate thermal decomposition of samples and to infer the amount of OMC loaded into SBA-15. Table 4 depicts the mass losses (Δm %) of the thermal decomposition stages and the corresponding DTG and proportional (w/w) calculated by TG/DTG.

TG/DTG of SBA-15 (Fig. 8) showed one event of mass loss ($\Delta m = 15.5\%$) and corresponded to release of water physically adsorbed in the surface of mesoporous material (T_{peak} DTG = 65 °C). TG/DTG curves of OMC (Fig. 8) showed no mass loss up to 100 °C. Above this temperature, two mass loss stages were observed. The first event occurred between 149 e 201 °C (T_{onset} DTG = 161 °C; T_{peak} DTG = 178 °C) and $\Delta m = 3.5\%$, while the second stage began immediately after the first event (T_{onset} DTG = 264 °C; T_{peak} = 293 °C) with $\Delta m = 95.5\%$ and corresponded to the volatilization and/or decomposition of this filter.

The TG/DTG curves obtained for encapsulated/entrapped sample (1:1) and physical mixture showed four events of mass loss. The first event occurred between 20 and 64 °C with T_{peak} DTG = 42 °C and $\Delta m = 2.0\%$ for SBA-15/OMC (1:1) and for physical mixture with T_{peak} DTG = 50 °C ($\Delta m = 3.7\%$). The second event for SBA-15/OMC (1:1) occurred between 165 and 265 °C (T_{peak} DTG = 241 °C) with $\Delta m = 8.5\%$, while for physical mixture this event occurred in the same temperature range (T_{onset} DTG = 235 °C; T_{peak} DTG = 250 °C); however, the mass loss was 12% higher than encapsulated/entrapped sample. The third event occurred overlapped with the second between 252 and 333 °C (T_{onset} DTG = 285 °C; T_{peak} DTG = 296 °C) with $\Delta m = 32\%$ for SBA-15/OMC (1:1), and for physical mixture with T_{onset} DTG = 282 °C and T_{peak} DTG = 292 °C ($\Delta m = 22.8\%$). This event corresponded to volatilization process of OMC (see TG/DTG curves of OMC in Fig. 8) in the surface of mesoporous material. The last event started after the third event with (T_{onset} DTG = 332 °C) ($\Delta m = 7.8\%$) for SBA-15/OMC (1:1). Physical mixture presented mass loss of 7.0% (T_{onset} DTG = 320 °C).

Regarding to SBA-15/OMC (2:1) sample, TG/DTG curves presented three events of mass loss. The first event corresponds to release of water physically adsorbed in the

Table 4 Thermogravimetric data and proportion SBA-15/filters (w/w) calculated by TG/DTG of samples

Samples	T_{peak} DTG/°C				Δm/%				Proportion SBA-15/filters/ w/w calculated by TG/DTG
	1st	2nd	3rd	4th	1st	2nd	3rd	4th	
SBA-15	65	–	–		15.5	–	–		–
OMC	178	293	–		3.5	95.5	–		–
SBA-15/OMC (1:1)	42	241	296	364	2.0	8.7	32.0	7.8	1:1
SBA-15/OMC (2:1)	50	273	383	–	3.5	30.0	3.8	–	1.9:1
Physical mixture	50	250	294	398	3.7	20.5	22.8	7.0	0.9:1

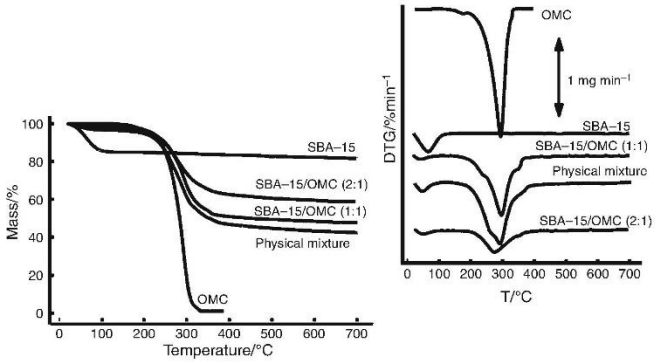


Fig. 8 TG/DTG curves of SBA-15, OMC, SBA-15/OMC encapsulated/entrapped samples (1:1 and 2:1) and physical mixture (SBA-15/OMC)

surface of mesoporous material (Fig. 8). The second event corresponded to the second and third event observed for encapsulated/entrapped sample (1:1) and physical mixture (T_{onset} DTG = 247 °C). The third and last event assigned to thermal decomposition and carbonization process of OMC inside the mesoporous of SBA-15, with T_{onset} DTG = 331 °C and T_{peak} DTG = 383 °C (Δm = 3.8%).

At a temperature of 700 °C, the accumulated mass was 49.5% for encapsulated/entrapped sample (1:1) and 62.7% for encapsulated/entrapped sample (2:1) and corresponded to total percentage of SBA-15. The total amount of OMC in the samples SBA-15/OMC (1:1) and SBA-15/OMC (2:1) were 48.5 and 33.7%, respectively. These results indicated that SBA-15/OMC (1:1) sample was prepared in proportion of 1:1 SBA-15/OMC (mass/mass), while the sample SBA-15/OMC (2:1) was prepared in proportion of 1.9:1 SBA-15/OMC (mass/mass). For physical mixture, the total amount of OMC was 50.3%, and at temperature of 700 °C the accumulated mass for SBA-15 was 46.0%. This finding indicated that this sample was prepared in proportion of 0.9:1 SBA-15/OMC.

The comparative analysis between TG/DTG curves of all samples (Fig. 8) demonstrated that DTG T_{onset} and T_{peak} (Table 4) of the last event shifted toward to higher temperatures compared with isolated OMC. Moreover, the presence of filter in the silica-loaded samples and physical mixture presented mass loss in the temperature region where the isolated samples (either SBA-15 or isolated OMC) did not show any thermal event (Δm 333–550 °C). These results suggest that SBA-15 provides protective function of OMC [32, 37].

Table 5 demonstrated T_{onset} and T_{peak} from the DSC curves, while Fig. 9 showed DSC curves of the samples. The DSC curve of SBA-15 revealed a broad endothermic peak between 24 and 110 °C (T_{peak} = 50 °C), corresponding to gradual release of water from the sample, which confirmed the presence of water in the system, and it was in agreement with the FTIR results. The large width of band can be clarified by the presence of water bound by different strength interactions and adsorbed on the external and internal surface of mesopores [28, 32].

DSC curve of OMC showed an endothermic event between 150 and 288 °C with T_{onset} = 190 °C and T_{peak} = 233 °C, indicating volatilization of this compound. The second event observed in DSC curve was exothermic (T_{onset} = 336 °C and T_{peak} = 354 °C), and this event assigned to thermal decomposition of filter.

Table 5 T_{onset} and T_{peak} of samples from DSC curves

Samples	Events								DTA exothermic event	
	1st		2nd		3rd		4th			
	T_{onset}/°C	T_{peak}/°C	T_{onset}/°C	T_{peak}/°C	T_{onset}/°C	T_{peak}/°C	T_{onset}/°C	T_{peak}/°C	T_{onset}/°C	T_{peak}/°C
SBA-15	22	50	–	–	–	–	–	–	–	–
OMC	190	233	336	354	–	–	–	–	308	328
SBA-15/OMC (1:1)	27	36	214	234	337	350	–	–	321	345
SBA-15/OMC (2:1)	24	34	185	229	316	340	–	–	331	341
Physical mixture	28	34	177	205	217	233	285	344	313	356

DTA exothermic event T_{onset} and T_{peak}

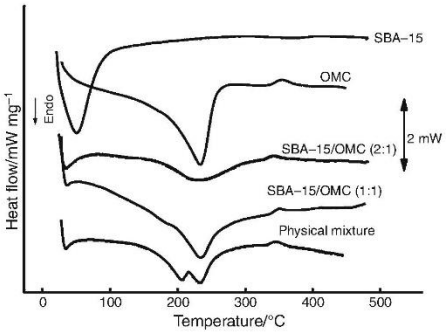


Fig. 9 DSC curves of SBA-15, OMC, SBA-15/OMC encapsulated/entrapped samples (1:1 and 2:1) and physical mixture (SBA-15/OMC)

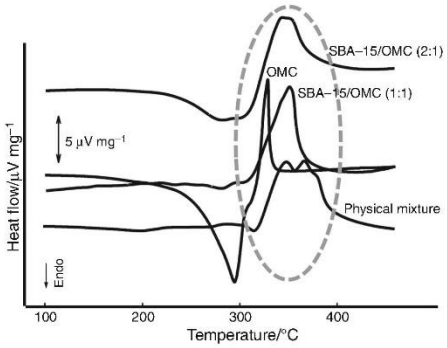


Fig. 10 DTA curves of SBA-15, OMC, SBA-15/OMC encapsulated/entrapped samples (1:1 and 2:1) and physical mixture (SBA-15/OMC)

DSC curves of encapsulated/entrapped sample (1:1) and SBA-15/OMC (2:1) showed three thermic events, while for physical mixture four events were observed.

For all samples, the first event was endothermic and corresponds to release of water in the same temperature range as showed by the curve of isolated SBA-15. The area under the peak is significantly smaller, due to the water partly eliminated in the process of encapsulation/entrapping or association of OMC with SBA-15 [28].

The second event observed in DSC curve was also endothermic for all samples and occurred in the same temperature range of isolated OMC (Table 5). However, DSC curve for physical mixture showed two events in the same temperature range of encapsulated/entrapped samples assigned to volatilization of OMC. The last event observed in the DSC curves of the previously discussed samples was exothermic in the 316–344 °C temperature range, and it corresponds to the last step of thermal decomposition observed in TG/DTG curves.

By the comparison of the DSC curves of OMC, SBA-15/OMC (1:1), SBA-15/OMC (2:1) and physical mixture, we found that the T_{onset} and T_{peak} temperatures of endothermic and exothermic events remain in the same temperature of isolated OMC. In spite of these results, exothermic events of DTA curves (Fig. 10) of both encapsulated/entrapped samples and physical mixture showed that the T_{onset} and T_{peak} temperatures of this event (Table 5) were shifted toward to higher temperatures compared with the exothermic event of isolated filter, indicating that thermal stability of OMC increased.

The comparative assessment of the FTIR spectra (Fig. 5) and the elemental analysis results (Table 4) showed the presence of OMC in the sample generated through the loading process and the physical mixture between filter/SBA-15 [36, 37]. Moreover, elemental analysis was essential toll to quantify the amount of OMC encapsulated/entrapped into SBA-15 (Table 6) and the association of the filter into SBA-15 (physical mixture).

Table 6 Elemental analysis of pure SBA-15, OMC, encapsulated/entrapped materials (SBA-15/OMC) and physical mixture

Samples	%C	%H	%N	% of OMC into SBA-15 by EA	% of OMC into SBA-15 by TG/DTG
SBA-15	0.05	2.7	0.1	–	–
OMC	74.9	9.5	0.06	–	–
SBA-15/OMC (1:1)	36.0	4.4	0.6	48.0	48.5
SBA-15/OMC (2:1)	25.0	4.0	–	33.6	33.7
Physical mixture	38.0	5.2	–	51.0	50.3

Comparison the % of OMC into SBA-15 by elemental analysis (EA) and TG/DTG

Freitas et al. [37] applied elemental analysis to quantify organic molecules anchored in the surface of SBA-15.

The lower carbon content found in pure mesoporous material indicated that it was successfully calcinated and the complete removal of the surfactant of SBA-15. Similar results have been reported by Tao et al. [17], who found negligible carbon percentage in mesoporous material.

The percentage composition of carbon was 36.0% for SBA-15/OMC (1:1) and for SBA-15/OMC (2:1) was 25.0%, which corresponded, respectively, to 48.00 and 33.60% (mass/mass) of OMC into SBA-15. Comparing these results with TG/DTG, we observed that the total percentage of mass loss for the 1:1 encapsulated/entrapped sample was 47.7%, whereas for SBA-15/OMC (2: 1) sample was 33.7%. These findings corroborate with elemental analysis results (Table 5).

The carbon content of the physical mixture sample was 37.7% which corresponds to 51.0% (mass/mass) of OMC in the surface of SBA-15. Therefore, we observed that the percentage of mass loss of OMC from TG/DTG curves was 50.3%, corroborating with elemental analysis results.

Conclusions

The obtained results demonstrated that octyl methoxycinnamate was encapsulated/entrapped into SBA-15 mesoporous silica using acetone, as solvent, through the process described herein. SEM was efficient to evaluate the morphology and particle size of SBA-15, while laser diffraction was important to evaluate the particle size of this material. The FTIR spectrum of encapsulated/entrapped samples displayed absorption bands typical for a free UV-filter, confirming the presence of these molecules after loading. Moreover, TG/DTG, DSC, DTA and elemental analysis confirmed the presence of OMC into SBA-15.

The decrease in the surface area and in mesoporous volume observed in the nitrogen adsorption/desorption isotherms of the encapsulated/entrapped materials associated with the shift observed in these isotherms and maintenance of the pore size, indicated an efficacious OMC encapsulation process into the SBA-15. Indeed, SAX results showed that OMC did not affect the hexagonal structure of the mesoporous material and filled the pores in SBA-15 by this compound.

Thermogravimetric and elemental analysis results made it possible to quantify the filter present in the mesoporous material. The reduction observed by thermogravimetric results in the rate of thermal decomposition of OMC in SBA-15 confirmed the protective loading function. Additionally, DTA curves of encapsulated/entrapped materials increased thermal stability of OMC. On the other hand, DSC curves of encapsulated/entrapped materials did not show any changes in thermal stability of OMC. In conclusion, the SBA-15 silica proved to be a material with high success potential as a filter carrier in sunscreen products, increasing the photo stability of these compounds.

Acknowledgements The authors would like to express their appreciation to Antonio Carlos F. Silveira (IF-USP) for the SAXS experiments, Dr. Marcia Fantini for the isothermal nitrogenous adsorption measures, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

References

1. Shaath NA. Ultraviolet filters. Photochem Photobiol Sci. 2010;9:464–9.
2. Nikolic S, Keck CM, Anselmi C, Müller RH. Skin photoprotection improvement: synergistic interaction between lipid nanoparticles and organic UV filters. Int J Pharm. 2011;414:276–84.
3. Shetty PK, Venuvanka V, Jagani HV, Chethan GH, Ligade VS, Musmade PB, et al. Development and evaluation of sunscreen creams containing morin-encapsulated nanoparticles for enhanced UV radiation protection and antioxidant activity. Int J Nanomed. 2015;10:6477–91.
4. Kockler J, Oelgemöller M, Robertson S, Glass BD. Photostability of sunscreens. J Photochem Photobiol C Photochem. 2012;13:91–110.
5. Benson HAE. Assessment and clinical implications of absorption of sunscreens across skin. Am J Clin Dermatol. 2000;1:217–24.
6. Krause M, Klit A, Blomberg Jensen M, Søeborg T, Frederiksen H, Schlumpf M, et al. Sunscreens: are they beneficial for health? An overview of endocrine disrupting properties of UV-filters. Int J Androl. 2012;35:424–36.

9. ANEXOS

9.1 Ficha de Aluno

6/4/2018

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9139 - 5959068/2 - André Luís Maximo Daneluti

Email:	al.danelut@usp.br
Data de Nascimento:	11/01/1980
Cédula de Identidade:	RG - 30.189.138-2 - SP
Local de Nascimento:	Estado de São Paulo
Nacionalidade:	Brasileira
Graduação:	Farmacêutico - Universidade Metodista de Piracicaba - São Paulo - Brasil - 2002
Mestrado:	Mestre em Ciências - Área: Produção e Controle Farmacêuticos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2012

Curso:	Doutorado
Programa:	Fármaco e Medicamentos
Área:	Produção e Controle Farmacêuticos
Data de Matrícula:	04/02/2014
Início da Contagem de Prazo:	04/02/2014
Data Limite para o Depósito:	04/06/2018
Orientador:	Prof(a). Dr(a). Jivaldo do Rosario Matos - 04/02/2014 até o presente. Email: jdrmatos@iq.usp.br
Co-orientador:	Prof(a). Dr(a). André Rolim Baby - 07/05/2014 até o presente. Email: andrerb@usp.br
Proficiência em Línguas:	Inglês, Aprovado em 04/02/2014
Prorrogação(ões):	120 dias Período de 04/02/2018 até 04/06/2018
Data de Aprovação no Exame de Qualificação:	Aprovado em 15/04/2016
Data do Depósito do Trabalho:	04/06/2018
Título do Trabalho:	"."
Data Máxima para Aprovação da Banca:	03/08/2018
Data de Aprovação da Banca:	
Data Máxima para Defesa:	
Data da Defesa:	
Resultado da Defesa:	
Histórico de Ocorrências:	Primeira Matrícula em 04/02/2014 Prorrogação em 03/04/2017

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 5473 em vigor de 18/09/2008 até 19/04/2013).
Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 07/02/2018
Impresso em: 04/06/2018 17:22:54

1/3

6/4/2018

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9139 - 5959068/2 - André Luís Maximo Daneluti

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBF5814-1/1	Tópicos Avançados em Fármaco e Medicamentos (Nanofibras: Materiais Poliméricos e suas Tecnologias Inovadoras de Aplicação em Sistemas de Liberação Modificada, na Medicina Regenerativa e na Engenharia de Tecidos)	17/02/2014	23/02/2014	30	0	-	-	N	Matrícula cancelada
EDM5791-6/1	Metodologia do Ensino Superior (Faculdade de Educação - Universidade de São Paulo)	11/03/2014	03/06/2014	120	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBT5700-3/1	Preparo de Artigos Científicos na Área de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica	03/04/2014	04/06/2014	90	6	95	A	N	Concluída
FBF5702-6/1	Formulação de Produtos Cosméticos e Cosmecêuticos	04/08/2014	07/09/2014	75	5	89	A	N	Concluída
FBA5728-3/10	Aprimoramento Didático	19/08/2014	15/09/2014	60	4	88	A	N	Concluída
FBF5813-1/1	Tecnologias de Caracterização de Sistemas Nanoestruturados	04/09/2014	15/10/2014	90	6	100	A	N	Concluída
FBF5805-1/3	Delineamento de Experimentos e Ferramentas Estatísticas Aplicadas às Ciências Farmacêuticas	24/09/2014	28/10/2014	45	0	-	-	N	Matrícula cancelada
IMT5108-1/3	Inglês para Apresentações em Conferências Internacionais e Redação de Artigos na Área de Medicina Tropical e Saúde Internacional (Instituto de Medicina Tropical de São Paulo - Universidade de São Paulo)	02/03/2015	24/05/2015	60	0	-	-	N	Matrícula cancelada
EDM5791-7/1	Metodologia do Ensino Superior (Faculdade de Educação - Universidade de São Paulo)	10/03/2015	20/04/2015	60	4	100	A	N	Concluída
FBF5805-2/1	Delineamento de Experimentos e Ferramentas Estatísticas Aplicadas às Ciências Farmacêuticas	05/08/2015	13/10/2015	90	6	87	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	0	20	31
Estágios:			
Total:	0	20	31

Créditos Atribuídos à Tese: 167

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 07/02/2018
Impresso em: 04/06/2018 17:22:54

6/4/2018

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9139 - 5959068/2 - André Luís Maximo Daneluti

Comissão julgadora da tese de doutorado:

NUSP	Nome	Vínculo	Função
58356	Jivaldo do Rosario Matos	IQ - USP	Presidente

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 07/02/2018
Impresso em: 04/06/2018 17:22:54

3/3

9.2. Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

Formulaire d'avis du CE

Sur mandat de la Commission centrale d'éthique de la recherche sur l'être humain; le Comité départemental d'éthique de N.A.C. a bien reçu vos modifications (version 2 du 30.9.08) dans votre courrier du 30.9.08 et vous en remercie. J'ai le plaisir de vous annoncer que votre protocole est définitivement accepté.

Désignation du projet de recherche n° de réf. CER: 08-150 (NAC 08-051)

Donation de peau humaine pour la recherche pharmaceutique – pour les études de perméation cutanée in vitro

Investigateur

Nom, prénom, titre:	Dr Y. Kalia
Fonction:	Maître d'enseignement et de recherche
Adresse:	Sciences pharmaceutiques - CMU

☒ procédure ordinaire ☐ procédure simplifiée ☐ évaluation ultérieure

Le comité d'éthique arrête l' **avis** suivant:

☒ **A Avis positif définitif**
☐ **B Avis conditionnel**
Evaluation ultérieure par le comité d'éthique nécessaire ☐
Information écrite au comité d'éthique suffisante ☐
☐ **C Avis négatif motivé (et explication pour réexamen)**
☐ **D Avis justifié de ne pas entrer en matière**

L'avis s'applique également aux autres investigateurs mentionnés dans la "demande d'évaluation", travaillant dans des sites de recherche relevant du champ de compétence du CE.

Emolument: --

Le Comité d'éthique:

Genève, le 27 octobre 2008 Nom : Prof. J.-S. LACROIX

Signature :

Currículo Lattes – André Luis Máximo Daneluti

André Luís Máximo Daneluti

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/0849363902258384
Última atualização do currículo em 31/03/2017

Graduado em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Metodista de Piracicaba (2002), Pós-graduado em Cosmetologia pela Faculdade Oswaldo Cruz (FOC) e mestrado em Fármacos e Medicamentos pela Universidade de São Paulo (2012), na área de concentração em Produção e Controle. Atualmente é doutorando no no Programa de Pós-graduação de Fármacos e Medicamentos pela USP, na área de concentração de Produção e Controle. Atua na pesquisa de novas tecnologias cosméticas e farmacotécnicas através da encapsulação/incorporação de filtros solares em material mesoporoso do tipo SBA-15. Apresenta 6 anos de experiência em Farmácia magistral e atualmente é professor do curso de Farmácia da Faculdade Oswaldo Cruz. Além disso, apresenta experiência docente de 4 anos na disciplinas de Farmacotécnica e Cosmetologia. Faço parte do comitê de ética em humanos da Universidade de São Paulo como representante discente. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	André Luís Máximo Daneluti
Nome em citações bibliográficas	DANELUTI, A. L. M.;DANELUTI, ANDRÉ LUIS MÁXIMO

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Instituto de Química. Av. Prof. Lineu Prestes, 748 Butantã 05508-900 - Sao Paulo, SP - Brasil - Caixa-postal: 26077 Telefone: (11) 30913837 Ramal: 237 Fax: (11) 38155579

Formação acadêmica/titulação

2014	Doutorado em andamento em Fármacos e Medicamentos (Conceito CAPES 4). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: AVALIAÇÃO DE PROTETORES SOLARES CONTENDO FILTROS EM MATRIZ DE SÍLICA MESOPOROSA ORDENADA DO TIPO SBA-15, Orientador: Jivaldo do Rosário Mattos. Coorientador: André Rolim Baby. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil. Grande área: Ciências da Saúde Setores de atividade: Pesquisa e desenvolvimento científico.
2009 - 2012	Mestrado em Fármacos e Medicamentos (Conceito CAPES 4). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: ESTUDO TERMOANALÍTICO ENVOLVENDO ESTABILIDADE E PRÉ-FORMULAÇÃO DE ÁCIDO FÍTICO LIVRE/EMULSÃO,Ano de Obtenção: 2012. Orientador: Jivaldo do Rosário Matos. Grande área: Ciências da Saúde Setores de atividade: Educação.
2004 - 2005	Especialização em Latu Sensu em Cosmetologia. (Carga Horária: 396h). Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Brasil. Título: Tratamento de cabelos danificados por colorantes oxidantes/permanentes e descolorações. Orientador: Sandra Papesky Sabbag.
1998 - 2002	Graduação em Farmácia e Bioquímica. Universidade Metodista de Piracicaba, UNIMEP, Brasil.

Formação Complementar

2012 - 2012	Formação Profissional em Pesquisa Clínica. (Carga horária: 160h). Invitare Pesquisa Clínica Auditoria e Consultoria, INVITARE, Brasil.
2006 - 2006	Extensão universitária em Manipulação Magistral na Dermatologia. (Carga horária: 8h). Centro de Treinamento e Estudos Botica Biofármaco, CTEBB, Brasil.
2002 - 2003	Extensão universitária em Extensão Universitária em Análises Clínicas. (Carga horária: 1138h). Universidade Metodista de Piracicaba, UNIMEP, Brasil.
2002 - 2002	Curso de Educação Continuada em Cosmetologia: aspectos teóricos e práticos. (Carga horária: 72h). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.
2000 - 2000	Extensão universitária em ?Da Planta ao Medicamento - Jornada de Plantas Medicinais. (Carga horária: 9h). Universidade Metodista de Piracicaba, UNIMEP, Brasil.
1999 - 1999	Extensão universitária em 3ª FARMAPIRA: Circuito Piracicabano de Estudos Farmacêuticos Universidade M. (Carga horária: 9h). Universidade Metodista de Piracicaba, UNIMEP, Brasil.

Atuação Profissional

Universidade Anhanguera de São Paulo, UNIAN/SP, Brasil.

Vínculo institucional

2012 - 2014	Vínculo: Colaborador, Enquadramento Funcional: Professor de Farmacotécnica/Cosmetologia, Carga horária: 10
Outras informações	Experiência em docência nas disciplinas de: - Farmacotécnica - Farmacognosia - Tecnologia Farmacêutica - Cosmetologia - Biossegurança Orientação de TCC Supervisor de estágio

Universidade Paulista, UNIP, Brasil.

Vínculo institucional

2012 - 2012	Vínculo: Colaborador, Enquadramento Funcional: Professor de Farmacotécnica, Carga horária: 10
Outras informações	Docente das disciplinas de Farmacotécnica, Tecnologia Farmacêutica e Controle de Qualidade. - Orientação de TCC

Universidade Metodista de Piracicaba, UNIMEP, Brasil.

Vínculo institucional

2000 - 2001	Vínculo: Scholarship, Enquadramento Funcional: Estudante Pesquisador de Iniciação Cientfíca, Regime: Dedicação exclusiva.
Outras informações	Projeto de Iniciação Científica intitulado como O Sistema Antioxidante Endógeno e Componentes Oriundos da Dieta :Mecanismo de Ação em Condições de Estresse Intenso Induzido In Vitro e In Vivo Local: UNIMEP, Agosto de 2000 a Julho de 2001. Trabalho apresentado no 9º Congresso de Iniciação Científica da UNIMEP, orientado pelo Prof. Dr. Paulo Chanel Deodato de Freitas - 2001.

Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Vínculo institucional

2015 - Atual	Vínculo: Scholarship, Enquadramento Funcional: Comitê de ética em humanos, Carga horária: 1
Outras informações	Representante discente titular do Comitê de ética em humanos Avaliação dos projetos para aprovação de projetos envolvendo seres humanos

Idiomas

Inglês	Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.
Francês	Compreende Razoavelmente, Fala Razoavelmente, Lê Razoavelmente, Escreve Razoavelmente.
Alemão	Compreende Pouco, Fala Pouco, Lê Pouco, Escreve Pouco.

Produções

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

Ordem Cronológica

1. **DANELUTI, ANDRÉ LUIS MÁXIMO**; NETO, FRANCISCO MARIANO ; VELASCO, MARIA VALÉRIA ROBLES ; BABY, ANDRÉ ROLIM ; DO ROSÁRIO MATOS, JIVALDO . Evaluation and characterization of the encapsulation/entrapping process of octyl methoxycinnamate in ordered mesoporous silica type SBA-15. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry JCR, v. 1, p. 1-9, 2017.

   Citações: SCOPUS 24
2. **DANELUTI, A. L. M.**; VELASCO, M.V.R ; BABY, A.R ; MATOS, J. R. . Thermal behavior and free-radical-scavenging activity of phytic acid alone and incorporated in cosmetic emulsions. Cosmetics, v. 2, p. 248-258, 2015.
3. **DANELUTI, A. L. M.**; MATOS, J. R. . Study of thermal behavior of phytic acid. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences (Impresso) JCR, v. 49, p. 275-283, 2013.

   Citações: WEB OF SCIENCE 9 | SCOPUS 16

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

1. **DANELUTI, A. L. M.**; BABY, A.R ; MATOS, J. R. . Thermal behavior and free-radical-scavenging activity of phytic acid alone and incorporated in galenic emulsions. In: IX CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA, 2014, Serra Negra. CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA, 2014.

Resumos publicados em anais de congressos

1. QUENCA-GUILEN, J. ; LIMA, C. C. ; OLIVEIRA, F.F ; **DANELUTI, A. L. M.** ; GUIMARÂES, C.A. ; PINTO, C.A.S.O. ; VELASCO, M.V.R ; KÉDORHACKMANN, É.R.M ; MERCURI, L. P. ; MATOS, J. R. . Estudo da estabilidade de óleos e manteigas da biodiversidade amazônica isolados e incorporados em emulsões cosméticas. In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA, 2008, São Paulo. CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA. São Paulo: Cosmetics & Toiletries, 2008. v. 20. p. 128.
2. **DANELUTI, A. L. M.** ; FREITAS, P. C. D. ; **DANELUTI, A. L. M.** . O sistema antioxidante endógeno e componentes oriundos da dieta: mecanismo de ação em condições de estresse intenso induzido in vitro e in vivo. In: 9º CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UNIMEP/CNPq, 2001, 2001, Piracicaba. 9º CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UNIMEP/CNPq, 2001, 2001.

Outras produções bibliográficas

1. **DANELUTI, A. L. M.**. TRATAMENTO DE CABELOS DANIFICADOS POR TINTURAS/DESCOLORAÇÕES 2005 (Monografia de Conclusão de curso).
2. **DANELUTI, A. L. M.**; Paulo Chanel Deodato de Freitas . O SISTEMA ANTIOXIDANTE ENDÓGENO E COMPONENTES ORIUNDOS DA DIETA :MECANISMO DE AÇÃO EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE INTENSO INDUZIDO IN VITRO E IN VIVO. PIRACICABA: UNIMEP, 2001 (INICIAÇÃO CIENTÍFICA).

Bancas

Participação em bancas de trabalhos de conclusão

Monografias de cursos de aperfeiçoamento/especialização

1. **DANELUTI, A. L. M.**; GARCIA, M. C.. Participação em banca de Letícia Azevedo Venâncio. Comparação entre peróxido de hidrogênio e metabissulfito de sódio como agentes branqueadores em dentifrícios. 2016. Monografia (Aperfeiçoamento/Especialização em Tecnologia em Cosmetologia) - Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza.

Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1. BABY, A.R; MARTINS, T. E. A.; **DANELUTI, A. L. M.**. Participação em banca de Larissa Carolina Diniz de Oliveira.Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsões contendo p-metoxicinamato de octila e benzofenona-3. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica) - Universidade de São Paulo.
2. **DANELUTI, A. L. M.**; BABY, A.R; DARIO, M.F. Participação em banca de Danielle Maeda Ideriha.Desenvolvimento e avaliação da fotoestabilidade de fotoprotetores labiais moldados. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade de São Paulo.

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. 28 CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA DA ABC. PARTICIPANT. 2015. (Congresso).
2. 28 CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA DA ABC. 2015. (Congresso).
3. 28 CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA DA ABC.SENSORY IN COSMETICS. 2015. (Oficina).
4. IFSCC Conference 2015. ENTRAPPING/ENCAPSULATION OF SUNSCREEN IN ORDERED MESOPOROUS SILICA TYPE SBA-15. 2015. (Exposição).
5. Palestra ministrada no Programa de Seminários da Comissão de Pesquisa da FCF/USP. 2015. (Outra).
6. 28 Congresso da IFSCC. Thermal behavior and free-radical-scavenging activity of phytic acid alone and incorporated in galenic emulsions. 2014. (Exposição).
7. Third International Workshop on Capillary electrophoresis and Microchip Technology. First Meeting on Liquid Chromatography. 2014. (Oficina).
8. XXXIV- Congresso Brasileiro de Farmacologia. O SISTEMA ANTIOXIDANTE ENDÓGENO E COMPONENTES ORIUNDOS DA DIETA :MECANISMO DE AÇÃO EM CONDIÇÕES DE ESTRESSE INTENSO INDUZIDO IN VITRO E IN VIVO. 2002. (Congresso).
9. XXXIV Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental. 2002. (Outra).

Orientações

Orientações e supervisões em andamento

Iniciação científica

1. Andre Rolim Baby. AVALIAÇÃO DA FOTOESTABILIDADE E PRODUTOS DE FOTODEGRAÇÃO DE EMOLIENTE CONTENDO ASSOCIAÇÃO DE AVOBENZONA E METOXICINAMATO DE OCTILA LIVRE E INCORPORADA EM MATRIZ DE SÍLICA MESOPOROSA ORDENADA DO TIPO SBA-15. Início: 2016. Iniciação científica (Graduando em Abi - Farmácia) - Universidade de São Paulo. (Orientador).

Outras informações relevantes

Participação do 9º Congresso de Iniciação Cientifíca da UNIMEP, orientado pelo Prof. Dr. Paulo Chanel Deodato de Freitas - 2001; Exposição do trabalho: O Sistema Antioxidante Endógeno e Componentes Oriundos da Dieta: Mecanismo de Ação em Condições de Estresse Intenso Induzido In Vitro e In Vivo

Página gerada pelo Sistema Currículo Lattes em 03/06/2018 às 20:25:58

Imprimir currículo