

Sandra Filipa Vaz Ferreira

Excipientes Nanotecnológicos aplicados na Dermocosmética: Desenvolvimento e
Caraterização de Formulações Fotoprotetoras contendo Nanopartículas de Lípidos
Sólidos Revestidas com Sílica

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde
Porto, 2012

Excipientes Nanotecnológicos aplicados na Dermocosmética: Desenvolvimento e Caracterização de
Formulações Fotoprotetoras contendo Nanopartículas de Lípidos Sólidos Revestidas com Sílica

Excipientes Nanotecnológicos aplicados na Dermocosmética: Desenvolvimento e Caraterização de
Formulações Fotoprotetoras contendo Nanopartículas de Lípidos Sólidos Revestidas com Sílica

Sandra Filipa Vaz Ferreira

Excipientes Nanotecnológicos aplicados na Dermocosmética: Desenvolvimento e
Caraterização de Formulações Fotoprotetoras contendo Nanopartículas de Lípidos
Sólidos Revestidas com Sílica

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2012

Excipientes Nanotecnológicos aplicados na Dermocosmética: Desenvolvimento e Caraterização de
Formulações Fotoprotetoras contendo Nanopartículas de Lípidos Sólidos Revestidas com Sílica

Sandra Filipa Vaz Ferreira

(Sandra Filipa Vaz Ferreira)

Excipientes Nanotecnológicos aplicados na Dermocosmética: Desenvolvimento e
Caraterização de Formulações Fotoprotetoras contendo Nanopartículas de Lípidos
Sólidos Revestidas com Sílica

Monografia apresentada á Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre
em Ciências Farmacêuticas.

Resumo

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento da intensidade da radiação solar, provocando um agravamento dos efeitos nefastos na saúde humana. A fotoproteção é um requisito fundamental, havendo uma crescente sensibilização e preocupação para este assunto.

A necessidade de novos sistemas fotoprotetores, eficazes e seguros, é cada vez mais evidente, encontrando-se reportado na literatura recente o desenvolvimento de protetores solares (PS) com filtros solares (FS) incorporados em nanopartículas de lípidos sólidos (*Solid Lipid Nanoparticles*, SLN) e em vetores lipídicos nanoestruturados (*Nanostructured Lipid Carriers*, NLC).

No presente trabalho produziu-se uma formulação SLN-Parsol[®] MCX com revestimento em sílica, dispersa num sistema semissólido, para aplicação tópica, revelando propriedades fotoprotetoras.

Utilizaram-se dois filtros solares com mecanismos específicos (natureza orgânica e inorgânica), o Parsol[®] MCX e dióxido de titânio (TiO₂). O Parsol[®] MCX foi incorporado em SLN contendo palmitato de cetilo como lípido sólido e TegoCare[®] 450 (T-450) como tensioativo. O TiO₂ foi adicionado diretamente ao veículo semissólido, já que este filtro solar apresenta baixa solubilidade em lípidos sólidos.

Foram realizados estudos de estabilidade físico-química, avaliando o diâmetro médio, potencial zeta, índice de polidispersão, bem como a visualização macroscópica e microscópica. Os resultados obtidos revelam uma estabilidade físico-química apropriada, ao longo do período de armazenamento, das amostras desenvolvidas.

Abstract

During the last years, intensity of solar radiation has been greatly increased, being responsible for a worsening of adverse effects in human health. Photoprotection is a fundamental requisite and there is a growing awareness and concern for this issue.

The need of new photoprotecting systems, effective and safe, is increasingly more evident, and the most recent literature reports the development of sun-protecting filters loaded in solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC).

In the present work, a formulation of SLN loading Parsol[®] MCX has been produced with a coating based on silica, and further dispersed in a semi-solid system for topical application, revealing fotoprotection properties.

Two sun-filters with specific mechanisms (of organic and inorganic nature), has been used, namely Parsol[®]MCX and titanium dioxide (TiO₂). The Parsol[®] MCX was loaded in SLN, containing cetyl palmitate as solid lipid and TegoCare[®] 450 as surfactant. The TiO₂ was added to the semi-solid vehicle, since this solar filter has a low solubility in lipids solids.

Physicochemical stability studies have been carried out, evaluating the mean diameter, zeta potential, and polydispersity index and macroscopic and microscopic visualization. The obtained results reveal appropriate physicochemical stability of the formulations under the storage conditions.

Dedicatórias

Aos meus Pais,

Que fizeram com que esta caminhada fosse possível. Que me felicitaram nos momentos mais brilhantes e me apoiaram, incondicionalmente, nos momentos mais escuros.

Aos meus Avós,

Que sempre me acompanharam, ficando lembranças deliciosas, que tornaram esta etapa, numa etapa afortunada.

Ao meu namorado,

Pelo seu grande companheirismo, compreensão, paciência e acima de tudo, pela energia que me brindou diariamente ao longo destes anos.

Agradecimentos

À Professora Doutora Eliana Souto por todo o auxílio, empenho, disponibilidade e incentivo.

À minha amiga Tatiana Andreani por todo o apoio, dedicação, disponibilidade, paciência e amizade.

A todos aqueles que direta ou indiretamente me auxiliaram e apoiaram na concretização deste percurso.

Um Muito Obrigada!

Lista de Abreviaturas

Abs – Absorvência

ADN – Ácido desoxirribonucleico

CC – Capacidade de carga

DLS – Técnica de espalhamento de luz (do Inglês: *Dynamic Light Scattering*)

DME – Dose mínima capaz de produzir eritema

DNA- Ácido desoxirribonucleico (do Inglês: *desoxyribonucleic acid*)

EB – Estrato basal

EC – Estrato córneo

EE -- Eficácia de encapsulação

FS – Filtro (s) solar (s)

FSI – Filtro solar inorgânico (também designados por Filtro (s) Solar (s) Físico (s))

FSO - Filtro solar orgânico (também designados por Filtro (s) Solar (s) Químico (s))

FPS – Fator de proteção solar

HAV – Homogeneização a alta velocidade

IA – Ingrediente (s) ativo (s)

I.V. – Intravenosa

LL – Lípido líquido

LS – Lípido sólido

NP – Nanopartícula (s)

NPL -Nanopartícula (s) lipídica (s)

NLC- Vetores lipídicos não estruturados (do Inglês: *Nanostructured Lipid Carriers*)

O/A – Óleo/Água

PC – Palmitato de cetilo

PS- Protetor (s) solar (s)

RNA – Ácido ribonucleico (do Inglês: *Ribonucleic acid*)

ROS – Espécies reativas de oxigênio (do Inglês: *reactive oxygen species*)

SA - Substância (s) ativa (s)

SLN - Nanopartículas de lípidos sólidos (do Inglês *Solid Lipid Nanoparticles*)

TiO₂- Dióxido de titânio

T-450 – TegoCare[®] 450

UV- Ultravioleta

λ – Comprimento de onda

Índice Geral

Resumo.....	5
Abstract	6
Dedicatórias.....	7
Agradecimentos	7
Lista de Abreviaturas	8
Índice de Figuras.....	12
Índice de Tabelas	13
I. Capítulo I.....	14
a. Introdução	14
b. Pele.....	16
i. Anatomia da pele.....	16
ii. Histologia da pele	17
iii. Funções da pele	22
c. Radiação Solar	22
i. Radiação UV	23
ii. Protetores solares.....	26
iii. Fator de Proteção Solar (FPS).....	30
iv. Sílica	31
d. Nanopartículas (NP).....	36
i. NPL.....	36
ii. SLN na Proteção Solar.....	41
II. Capítulo II - Materiais e Métodos Experimentais	43
a. Avaliação da solubilidade do Parsol [®] MCX em diferentes lípidos.....	43
b. Desenvolvimento das SLN	44
c. Avaliação do diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das SLN	45
d. Desenvolvimento das SLN-Parsol [®] MCX revestidas com sílica	46
e. Análise da estabilidade física das formulações contendo SLN e SLN-Parsol [®] MCX revestida com sílica.....	47
f. Análise morfológica das formulações contendo SLN e SLN-Parsol [®] MCX revestidas com sílica.....	47
g. Incorporação das SLN- Parsol [®] MCX revestidas com sílica em hidrogel de Carbopol...48	

h.	Estabilidade física do Emulgel.....	48
i.	Análise morfológica do emulgel.....	48
III.	Capítulo III - Resultados e Discussão.....	49
a.	Análise da solubilidade do Parsol [®] MCX em diferentes lípidos.....	49
b.	Desenvolvimento das SLN.....	50
c.	Análise do diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das SLN desenvolvidas.....	50
d.	Desenvolvimento das SLN-Parsol [®] MCX revestidas com sílica.....	51
e.	Análise do diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das formulações SLN e SLN-Parsol revestidas com sílica.....	51
f.	Análise morfológica das formulações contendo SLN e SLN-Parsol [®] MCX revestidas com sílica.....	53
g.	Preparação do Emulgel.....	54
h.	Estabilidade física do Emulgel.....	55
i.	Análise morfológica emulgel.....	56
IV.	Conclusão.....	57
V.	Referencias Bibliográficas.....	59

Índice de Figuras

Figura 1: Representação esquemática da pele com suas respectivas camadas e anexos.

Figura 2: Espectro com ação eritemogénico e causador de danos no DNA.

Figura 3: Estrutura química do Parsol[®] MCX.

Figura 4: Espectro de absorção do Parsol-MCX.

Figura 5: Aumento da hidratação cutânea (valor do corneómetro) depois da aplicação de um creme comercial e depois da aplicação da mesma formulação contendo SLN.

Figura 6: Formação de uma estrutura cristalina perfeita em SLN e formação de uma matriz cristalina com várias imperfeições.

Figuras 7: Microscopia de ótica das SLN (a) e SLN-Parsol[®] MCX revestidas (b)

Figuras 8: Microscopia de ótica do Emulgel

Índice de Tabelas

Tabela 1: Composição do estrato córneo.

Tabela 2: Propriedades dos diferentes lípidos sólidos para a solubilização do Parsol[®] MCX

Tabela 3: Composição das SLN desenvolvidas.

Tabela 4: Análise da solubilidade do Parsol a 25%.

Tabela 5: Resultados da análise do diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das SLN.

Tabela 6: Resultados da Caracterização físico-química das SLN e SLN- Parsol[®] MCX revestidas com sílica.

Tabela 7: Resultados obtidos da avaliação da estabilidade do emulgel.

I. Capítulo I

a. Introdução

Nos últimos anos, tem-se assistido à contínua danificação e redução da camada de ozono, determinando o aumento da intensidade dos raios ultravioleta (UV) que atingem a superfície terrestre. Com isto, tem-se verificado o aumento dos efeitos nefastos causados na saúde humana pela radiação UV, apontada como principal fator etiológico para o desenvolvimento de cânceros de pele (Leffell, 2000).

Desta forma, assiste-se a uma crescente indispensabilidade, responsabilidade e sensibilização para a adoção de medidas de fotoprevenção, como limitar o tempo de exposição solar, evitando assim a exposição exagerada, uso rotineiro de protetores solares (PS) ou outros produtos que previnam ou reduzam os danos induzidos pelos raios UV (El-Toni et al., 2010, González et al., 2008), assim como produtos cosméticos que contenham na sua constituição PS (Santoro et al., 2005).

Com esta necessidade, cada vez mais urgente, para uma proteção segura e eficaz da nossa pele face à radiação UV, novas concepções para formular PS têm sido investigadas, abrindo horizontes para um campo muito promissor, o campo da nanotecnologia (Park, 2007).

A nanotecnologia, nos últimos anos, tem adquirido um crescente foco por parte de muitos investigadores em diversas áreas, alistando como uma das principais, a atividade farmacêutica (Park, 2007).

As nanopartículas (NP) são partículas com dimensões coloidais, num intervalo de valores compreendido entre os 40 nm e os 1000 nm (Pardeike et al., 2009b, Puri et al., 2010), podendo ser subdivididas em nanocristais (Rabinow, 2004), nanopartículas poliméricas, nanopartículas inorgânicas (Allen and Moase, 1996, Labouta and Schneider, 2012), e nanopartículas lipídicas (NPL), onde estão incluídas as

nanopartículas de lípidos sólidos (SLN) e os vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) (Müller et al., 2000).

A amplificação das investigações neste campo é consequência das inúmeras vantagens apresentadas por estes sistemas, relativamente a outros como o aumento da estabilidade das SA ou IA, protegendo-os contra a degradação físico-química (Zur Mühlen et al., 1998), a possibilidade de obter uma libertação controlada das SA (Podio et al., 2000, Santos Maia et al., 2002), o aumento do grau de hidratação e elasticidade da pele por formação de um filme em monocamada (Pardeike et al., 2009a, Pardeike et al., 2010, Pardeike et al., 2009b).

Além disso, devido à sua escala manométrica e ao caráter sólido, as SLN possuem características de proteção contra a radiação UV, atuando como filtro solar físico por si só, exibindo por isso, um efeito sinérgico na proteção solar juntamente com os FS (Alvarez-Roman et al., 2001, Nikolic et al., 2011, Yener et al., 2003, Nesseem, 2011a, Villalobos-Hernández and Müller-Goymann, 2006, Puri et al., 2010) .

Resultado das características apresentadas precedentemente, as SLN e NLC, demonstram um grande potencial no desenvolvimento de formulações para aplicação tópica de fármacos ou cosméticos (Mehnert and Mäder, 2001), compilando também, os requisitos necessários para o desenvolvimento de preparações para proteção solar, seguras e eficazes (Carlotti et al., 2005).

O objetivo da presente monografia consistiu no desenvolvimento de uma forma farmacêutica semissólida contendo SLN revestidas com sílica, para aplicação dérmica, com capacidades protetoras contra a radiação UV. Pretendeu-se produzir um PS seguro e eficaz, ostentando vantagens comparativamente a formulações convencionais, com elevada estabilidade físico-química, menos efeitos colaterais e uma maior segurança e eficiência.

No presente trabalho, usaram-se dois FS com mecanismos de ação distintos. O filtro solar orgânico (FSO), 2-etilexil-4-metoxicinamato, denominado comercialmente de Parsol[®] MCX foi incorporado em SLN revestidas com sílica.

O dióxido de titânio (TiO₂), filtro solar inorgânico, foi adicionado ao veículo semissólido, i.e. um hidrogel. Posteriormente as nanopartículas foram incorporadas no hidrogel, dando origem ao emulgel. As SLN foram preparadas pelo método de homogeneização a alta velocidade (HAV).

b. Pele

A pele é um órgão bastante complexo, composto por diversas estruturas com distintos tipos celulares, atuando sobretudo como órgão de defesa dos órgãos internos, face ao ambiente externo (Junqueira and Carneiro, 1999).

Sendo o maior órgão do corpo humano, apresenta características de resistência, flexibilidade, impermeabilidade relativa, propriedades plásticas (Cua et al., 1990) capacidade imunológica e sensorial, que lhe possibilita cumprir importantes funcionalidades na manutenção da homeostasia corporal (Junqueira and Carneiro, 1999). Possui também elevada capacidade de autorreparação, assegurando o equilíbrio entre proliferação e a descamação celular (Junqueira and Carneiro, 1999).

i. Anatomia da pele

A pele é constituída principalmente por duas camadas de tecido (Figura 1): derme, epiderme (Fitzpatrick and Aeling, 2000, Menon, 2002, Popov et al., 2005). A epiderme é uma camada de tecido epitelial que assenta na derme a qual é composta por uma camada de tecido conjuntivo, encontrando-se unida à hipoderme (Seeley et al., 2003).

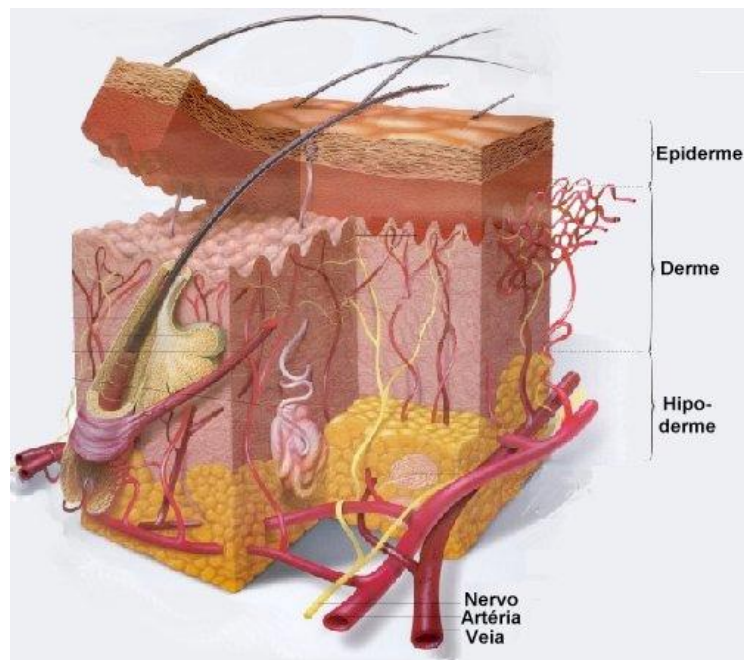


Figura 1- Representação esquemática da pele com suas respectivas camadas e anexos (pelos e glândulas) (Seeley et al., 2003)

A pele é composta por uma enorme variedade de estruturas celulares com funções diversas e apêndices que incluem as unidades pilossebáceas (folículo piloso associado à glândula sebácea) e glândulas sudoríparas podendo estas ser apócrinas ou écrinas. As glândulas sudoríparas estendem-se desde o estrato córneo (EC) até à derme ou epiderme (2-5 mm de comprimento), estando envolvidas na termorregulação e excreção de ácidos e restos metabólicos (Kierszenbaum, 2002).

ii. Histologia da pele

1. Epiderme

A epiderme, camada mais externa da pele, é formada por um epitélio pavimentoso estratificado, encontrando-se separada da derme pelo estrato basal (Popovich and Allen, 2000). Exibe uma espessura menor que a derme e é avascularizada, sendo alimentada por difusão a partir dos capilares da camada papilar da derme (Seeley et al., 2003).

A epiderme é constituída principalmente por estruturas celulares denominadas por queratinócitos, responsáveis pelas características naturais de resistência e permeabilidade da epiderme. Outras figuras celulares participam na constituição da epiderme como os melanócitos, os quais contribuem para a cor da pele, as células de *Langerhans*, que fazem parte do sistema imunitário e as células de *Merkel*, células epidérmicas especializadas associadas a terminações nervosas, responsáveis pela detecção do tato superficial e da pressão superficial (Seeley et al., 2003).

É na epiderme que se encontra o sistema melanocítico, formado pelos melanócitos, que se situam na camada basal. Estas células são responsáveis pela produção de melanina, pigmento capaz de absorver e refletir a radiação UV e visível, dissipando-a preferencialmente sob a forma de calor (Kullanjaya and Lim, 2005).

A epiderme é constituída por vários estratos. Da camada mais profunda à mais superficial evidenciam-se cinco estratos: estrato basal (EB), estrato espinhoso, estrato granuloso, estrato translúcido e estrato córneo (EC) (Roop, 1995, Nemes and Steinert, 1999).

O EB é constituído por células jovens, colunares e justapostas. É neste estrato que ocorre a proliferação celular e consequente renovação das células da epiderme (Menon, 2002), por um processo denominado por mitose.

A partir deste estrato as células deslocam-se para os estratos superiores, ocorrendo simultaneamente um processo de queratinização, diferenciação, degenerescência e morte celular (Elias and Menon, 1991).

As células mais recentes projetam as células mais antigas para a superfície, originando o processo de descamação. As células mais superficiais protegem as células subjacentes e as células mais profundas, que se encontram em divisão, vão substituindo as células perdidas à superfície (Seeley et al., 2003).

A diferenciação final ocorre entre o estrato granuloso e o EC, onde células viáveis são transformadas em células mortas queratinizadas, totalmente achatadas, desprovidas de núcleo, denominando-se de corneócitos (Elias and Menon, 1991).

Os corneócitos possuem desmossomas, os quais adquirem a designação de corneodesmossomas. A sua funcionalidade passa pela união dos corneócitos, auxiliando na constituição de uma barreira, através da conservação da estrutura e compactação celular. Estes sofrem degradação enzimática, por enzimas proteolíticas, resultando no processo de descamação (Koch and Franke, 1994, Al-Amoudi et al., 2005, Caubet et al., 2004).

Os corneócitos são rodeados por lípidos (componente hidrofóbico), libertados pelos corpos lamelares e por um duro invólucro proteico (componente hidrófilo), sendo preenchidos com proteínas de queratina (Moser, 2001).

Esta composição é responsável pelas características de permeabilidade e resistência estrutural do EC, possibilitando uma proteção mecânica e física (Bouwstra et al., 2003, Monteiro-Riviere, 2010, Roop, 1995, Candi et al., 2005, Madison, 2003, Seeley et al., 2003).

As principais classes de lípidos presentes no EC incluem o colesterol, ácidos gordos livres e ceramidas (Tabela 1) (Goldsmith, 1991), existindo pelo menos nove classes de ceramidas livres diferentes, duas das quais são ceramidas A e ceramidas B (Bouwstra et al., 2003, Downing et al., 1987).

Tabela 1- Composição do estrato córneo (Baroli, 2010).

Componentes	Subelementos	Dimensões	Composição Química (%)	
Estrato Córneo	Corneócitos	largura: 10– 20 μm	Água	5-20
	Matriz lipídica		Lípidos	10.5-11.4
	Corneodesmossomas		Proteínas	61.0– 79,2
			Material não identificado	5.3– 7,6
Corneócitos	Citoplasma (80-90 %)	Diâmetro: 40 μm	Água	
	Envelope celular (7-10%)	largura: 0.3– 0.8 μm Densidade: 1.5 g/cm^3	Queratina Complexo queratina-filagrina Proteínas do envelope interno Lípidos do envelope externo	
	Envelope interno proteico	largura: 10 nm	Involucrina	2–5%
	Envelope lipídico externo	largura: 5nm	Loricrina	80%
Matriz lipídica			SPRs	3–5%
			Cistatina A	2–5%
			Proelafina	<1%
			Profilagrina	<1%
			Queratina tipo II	<1%
			Desmoplaquina	<1%
			Envoplaquina	<1%
			Periplaquina	<1%
			Proteínas S 100	<1%
			ϕ -hydroxiceramidas (C ₃₀₋₃₆)	
			Colesterol	
			Esteres de Colesterol	
			Sulfatos de Colesterol	
			Ceramidas (1–9)	
			Ácidos gordos livres	
			Triglicerídeos	

2. *Derme*

Interiormente à epiderme situa-se a derme, colaborando também para a resistência estrutural da pele, sendo organizada em duas camadas distintas, a reticular e a papilar. A camada reticular, a mais profunda, apresenta uma espessura maior que a papilar e é formada por tecido conjuntivo denso e irregular, apresentando continuidade com a hipoderme (Obagi, 2004).

Na sua composição encontram-se compostos celulares como fibroblastos, células adiposas e macrófagos, apresentando-se também terminações nervosas, folículos pilosos, músculo liso, glândulas, vasos sanguíneos e linfáticos, imersos numa rede densa de tecido conjuntivo (Prow et al., 2011, Monteiro-Riviere, 2010).

As fibras de colagénio constituem o principal tipo de fibra presente no tecido conjuntivo, encontrando-se também fibras de elastina e reticulares, dispostas horizontalmente, compondo um tapete de fibras orientadas de forma irregular, que conferem à pele características de elasticidade e plasticidade (Seeley et al., 2003, Franceschini, 1994, Obagi, 2004).

Comparativamente à camada reticular, a derme papilar ostenta maior número de células e menor número de fibras, sendo estas menos espessas e dispostas de uma forma mais solta, sendo por esta razão também designada de tecido conjuntivo laxo (Seeley et al., 2003). Contém também inúmeros vasos sanguíneos que fornecem nutrientes ao estrato suprajacente, removem produtos de excreção e contribuem para a regulação da temperatura corporal (Seeley et al., 2003, Obagi, 2004).

3. Hipoderme

A hipoderme, também designada por tecido celular subcutâneo, congrega a pele aos ossos e músculos subjacentes, abastecendo-a de vasos sanguíneos e nervos, sendo composta por um tecido conjuntivo laxo constituído por fibras de colagénio e elastina, fibroblastos, células adiposas e macrófagos (Seeley et al., 2003).

A hipoderme contém aproximadamente metade da gordura corporal, opera como almofadado e isolante, cuja quantidade e localização difere com a alimentação, sexo e idade (Seeley et al., 2003).

iii. Funções da pele

A pele é um órgão responsável por funções muito complexas. É essencial para a manutenção da temperatura corporal pelo controlo do fluxo de sangue e pela atividade das glândulas sudoríparas, atua como barreira de defesa física face ao ambiente externo, permitindo em simultâneo a interação com este, impedindo a invasão por parte de microrganismos, prevenção da desidratação e proteção face à radiação UV (Roberts and Walters, 2008, Seeley et al., 2003).

A pele tem capacidade de minimizar os efeitos da radiação UV, através de um processo de absorção da radiação e dissipação do calor através da formação de suor e regulação do fluxo sanguíneo (Elias, 2005).

A permeação de substâncias na pele pode ocorrer por difusão passiva, através da penetração transcelular, intercelular, por meio de folículos pilosos, glândulas sudoríparas e sebáceas. A penetração das substâncias pelos anexos cutâneos não é significativa, uma vez que estas estruturas representam uma pequena fração da área superficial total da pele (Hadgraft, 2001).

c. Radiação Solar

A proteção solar apresenta-se como uma condição indispensável para a saúde do ser humano, tornando-se obrigatória quando nos deparamos com o decréscimo da camada de ozono e com o resultante aumento da intensidade dos raios UV e dos seus efeitos nocivos (Wissing and Müller, 2001).

A luz solar que atinge a superfície terrestre é composta por um espectro contínuo de radiação eletromagnética, encontrando-se dividido em concordância com os comprimentos de onda (λ), 5% de radiações UV (100 – 400 nm), 39% de luz visível (400 – 780 nm) e 56% de infravermelhos (acima de 780 nm). A radiação UV pode ainda

ser subdividida em 95% de UVA e 5% UVB (González et al., 2008, Wissing and Muller, 2001b).

Contudo, a radiação é atenuada ao atravessar as camadas atmosféricas, impedindo que grande parte atinja a superfície terrestre. Este fenômeno é efetuado por meio de outros processos de absorção, dispersão e reflexão da radiação na estratosfera, camada de ozônio e troposfera, local onde se formam as nuvens e as manifestações climáticas (Lowe et al., 1997a).

i. Radiação UV

A porção UV (100-400 nm), do espectro eletromagnético, é usualmente fragmentada em três partes, UVC (100-280 nm) que praticamente não atinge a superfície terrestre, devido à absorção quase completa pela camada de ozônio, UVB (280-320 nm) responsável pelos danos imediatos da radiação solar, devido à sua alta energia e UVA (320-400 nm), a qual induz alterações celulares, sendo os fibroblastos e os melanócitos particularmente suscetíveis (Lowe et al., 1997a, Popov et al., 2005).

A exposição à radiação UV é responsável por danos cutâneos, causando efeitos nefastos na pele como lesões celulares, hiperqueratose, fotoenvelhecimento (Trenti, 2007, Proserpio, 1985), observando-se o espessamento da camada espinhosa e achatamento da junção dermoepidérmica (Palm and O`donoghue, 2007, González et al., 2008) e fotocarcinogênese induzida por imunossupressão e mutações (Ullrich and Schmitt, 2000, Ullrich, 2005, Walterscheid et al., 2002).

Pesquisas recentes demonstram que a exposição à radiação UVB e UVA tem um papel indubitável no desenvolvimento de cancro da pele, sendo responsável por danos no DNA e supressão o sistema imunitário (Lim and Soter, 1992).

Podemos observar, na Figura 2, o espectro de ação da suscetibilidade da pele humana ao eritema (McKinlay and Diffey, 1987) e aos danos causados no DNA (Setlow, 1974) face a radiação UV.

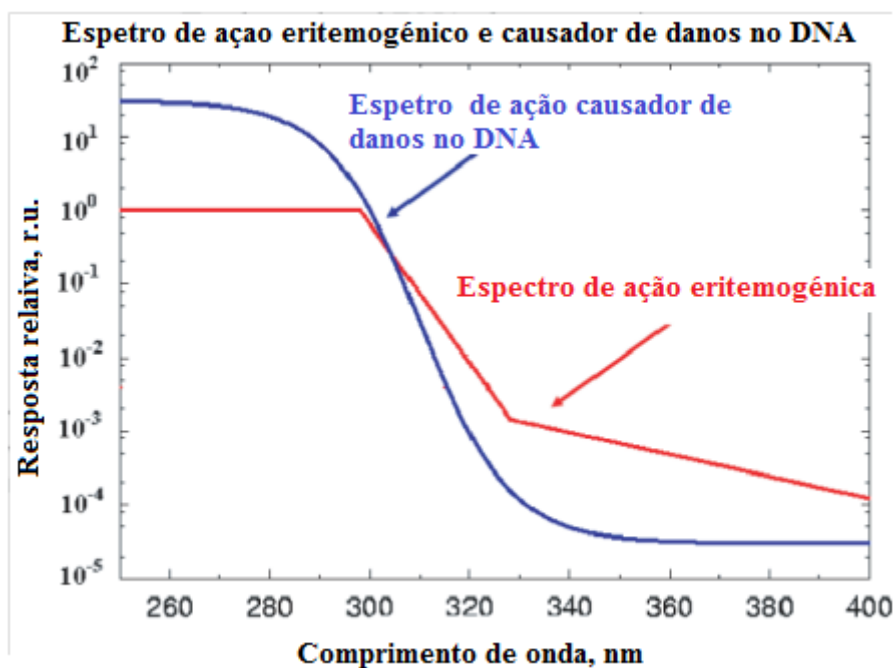


Figura 2 - Espectro com ação eritemogênico e causado de danos no DNA (Gueymard et al., 2002, McKinlay and Diffey, 1987)

As diferentes moléculas presentes na pele, como melanina, ácido desoxiribonucléico (DNA), ácido ribonucleico (RNA), lípidos, água, aminoácidos aromáticos (tirosina e o triptofano), entre outras, absorvem a radiação UV de diversas maneiras (González et al., 2008).

Porém, o alvo principal da radiação UV é o ADN, especificamente as pirimidinas, estando sujeitas a modificações fotoquímicas que resultam em mutações, as quais poderão resultar transformações malignas da célula (Scharffetter-Kochanek et al., 1997).

A resposta primária da pele após exposição solar é a inflamação, provocada pela ativação de componentes do sistema imunitário cutâneo como as prostaglandinas,

leucotrienos entre outros mediadores inflamatórios e autoantígenos captados de células lesadas pela radiação UV (Maverakis et al., 2010). A resposta inflamatória é caracterizada por eritema, calor e edema (Clydesdale et al., 2001).

Células especializadas, como neutrófilos, são recrutadas, resultando na ativação do sistema NAD(P)H oxidase e originando espécies reativas de oxigênio (*ROS- reactive oxygen species*) (Goodman, 2002).

Estes compostos podem reagir com corpos celulares, alguns dos quais iniciam um processo de sinalização celular que pode modificar a expressão génica (Heck et al., 2004), causando efeitos indesejáveis (Kullavanijaya and Lim, 2005), como mutações genéticas e alterações histoquímicas de gravidade variável (Flor et al., 2007).

Estudos comprovam que peles sujeitas a uma exposição solar crónica, apresentam uma incidência mais elevada de mutações no gene supressor de tumores p53, devido ao stresse oxidativo a que são sujeitas (Einspahr et al., 1999). Sugere-se ainda que, independentemente dos danos causados no DNA, o desequilíbrio redox provocado pela radiação UV, pode interferir na apoptose celular (H. Chang, 2002).

1. UVA

A radiação UVA normalmente não causa eritema. Quando comparada com a UVB, a sua aptidão para originar eritema é aproximadamente mil vezes menor. Contudo o seu poder de penetração na pele é superior, sendo responsável pela pigmentação da pele, pelo aumento da atividade da tirosinase (Schueller and Romanowski, 2000) e pela fotoxidação da leucomelanina, localizada nas camadas mais externas da epiderme (Flor et al., 2007).

Ao nível histológico pode provocar danos no sistema vascular periférico e impulsionar o desenvolvimento de cancro da pele, dependendo do tipo de pele, tempo de exposição, frequência da exposição e intensidade da radiação (Steiner, 1995).

2. UVB

Os raios UVB, detentores de um alto nível de energia, provocam com grande frequência queimaduras solares (eritema solar), assim como o envelhecimento celular precoce, sendo por isso, a região do espectro mais fortemente absorvida por muitos PS comerciais (Matsumara and Ananthaswamy, 2004).

Já supracitado, a radiação UVB é fortemente absorvida pelo DNA, facto que poderá originar danos nos cromossomas e conseqüente risco de mutações, que poderá em alguns casos progredir para cancro da pele (Streilein et al., 1994, Diffey, 1991).

ii. Protetores solares

Um PS modelar deve oferecer o máximo de proteção solar, absorver num largo espectro de radiação UV, mostrar boas características de adesão à pele, resistência à água e apresentar um diminuto grau de toxicidade (Nohynek and Schaefer, 2001), alcançando o mínimo de penetração dos filtros solares (FS) na pele (Lim and Soter, 1992).

Os FS são comumente divididos em orgânicos e inorgânicos, classificados respetivamente como filtros de efeito químico (filtros solares químicos - FSQ) e filtros de efeito físico (filtros solares físicos - FSF). Geralmente, os compostos orgânicos protegem a pele através da absorção da radiação UV e os inorgânicos pela reflexão da radiação UV (Diffey and Grice, 1997).

1. Filtros Solares Orgânicos

Os FSO são constituídos por moléculas orgânicas, compostos aromáticos com grupos carboxílicos, que apresentam geralmente um grupo dador de eletrões, como uma amina ou um grupo metoxilo, na posição *orto* ou *para* do anel aromático (Flor et al., 2007).

O mecanismo de ação destes compostos passa pela absorção da radiação UV, transformando-a numa radiação com menor grau energético, inócua para a pele humana (Deflandre and Lang, 1988).

Ao absorver a radiação UV, os eletrões que se encontram na orbital π HOMO (orbital molecular preenchida de energia mais elevada) são excitados para orbital π^* LUMO (orbital molecular vazia de energia mais baixa) e, ao retornarem ao estado inicial, o excesso de energia é libertado sob a forma de calor, por fluorescência ou fosforescência (Deflandre and Lang, 1988). As transições eletrónicas, envolvidas durante a absorção da luz UV, ocorrem entre a diferença de energia HOMO – LUMO (Flor et al., 2007).

Devido à natureza lipófila de muitos FSO utilizados em PS, verifica-se a sua bioacumulação em humanos e animais, originando reações adversas como dermatites de contacto, urticária, fototoxicidade, reações fotoalérgicas e em alguns casos reações anafiláticas severas (Lautenschlager et al., 2007b, Popov et al., 2005, Wolf, 1999).

Outra preocupação sobre os efeitos adversos dos FSO, é a sua possível atividade hormonal, possivelmente relacionada com doenças neurodegenerativas (Weiss, 2007), podendo exibir uma atividade antiestrogénica, antiandrogénica ou ativação dos recetores de estrogénio (Kunz and Fent, 2006, Nashev et al., 2010, Schlumpf et al., 2004).

No presente trabalho, utilizou-se o octil-p-metoxi-cinamato ou 2-etilhexil-4-metoxi-cinamato (Parsol[®] MCX) (Figura 3), um FSO comumente empregado em formulações para proteção solar (Nikolic et al., 2011).

Este composto é um líquido transparente, levemente amarelado e inodoro. Tem um peso molecular de 290,4 e o ponto de ebulição situa-se entre os 185-195°C (The Merk Index, 2001). É uma molécula orgânica de natureza lipófila, derivado da classe dos cinamatos, com capacidade para absorver e dissipar radiação UVB numa região do espectro entre os 290 nm aos 320 nm (Figura 4) (Wang et al., 2010, Kimura and Katoh, 1995) protegendo a pele dos efeitos nocivos da radiação UVB (Hanno et al., 2011).

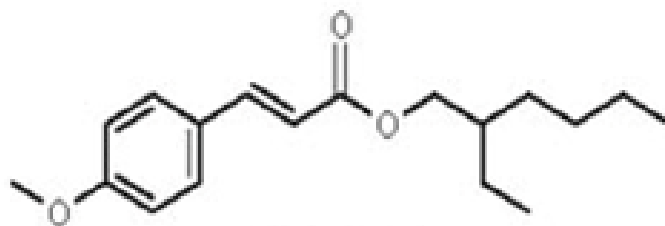


Figura 3 - Estrutura química do Parsol[®] MCX (McGarvey, 2007)

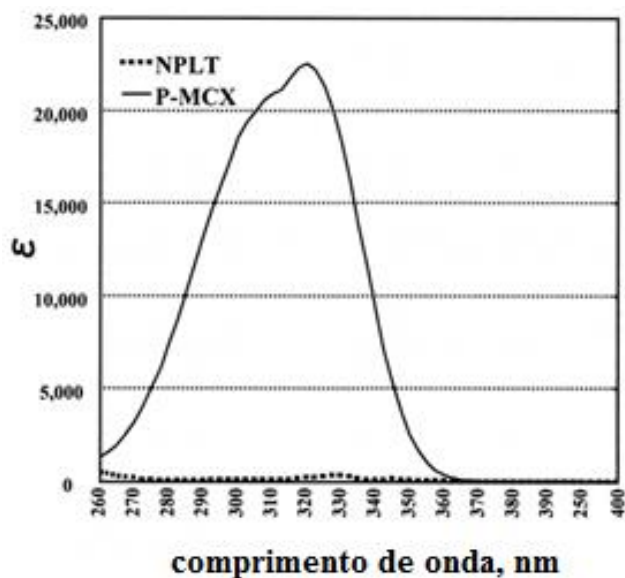


Figura 4 - Espectro de absorção do Parsol-MCX (Tsuji et al., 2001)

Devido às suas características, o Parsol[®] MCX é também utilizado na prevenção da fotodegradação de outros IA usados em cosméticos, promovendo a estabilização das formulações (Hanno et al., 2011).

A presença de α -tocoferol possibilita o aumento da fotoestabilidade do Parsol[®] MCX. Em formulações com nanoemulsões, a percentagem de PS danificado na presença de α -tocoferol é 10% menor do que a degradação sem α -tocoferol (Hanno et al., 2011).

2. Filtros Solares Inorgânicos

O TiO_2 e ZnO , FSI comumente usados em PS, exibem elevada segurança e eficácia quanto à proteção solar, pois ostentam um baixo potencial de irritação, sendo indicados para formulações de uso infantil e pessoas com peles sensíveis (Schueller and Romanowski, 2000).

O TiO_2 é um composto inerte, inorgânico e com elevada estabilidade, o que evita a sua decomposição por parte da radiação UV, diminuindo a ocorrência de reações alérgicas na pele (Lowe et al., 1997b). O mecanismo de ação baseia-se na reflexão da radiação UV, sendo, por esta razão, incluído em muitas formulações de PS (Sadrieh et al., 2010).

Contudo, formas micronizadas do TiO_2 , podem sofrer reações fotoquímicas que comprometem sua eficácia, podendo resultar em danos no material genético e alteração da homeostasia celular. Este inconveniente pode ser atenuado através do revestimento das partículas com dimeticone ou sílica, aumentando desta forma a sua estabilidade (Baron et al., 2008, González et al., 2008, Lautenschlager et al., 2007a).

Fazendo referência aos parâmetros de penetração e acumulação na pele, estudos *in vivo* e *in vitro*, não evidenciam a penetração do TiO_2 nas camadas viáveis da epiderme. Segundo IARC “estudos da aplicação de protetores solares contendo dióxido de titânio ultrafino em voluntários com pele saudável, revelou que as partículas de TiO_2 apenas penetram nas camadas mais superficiais do estrato córneo, sugerindo que a pele saudável é uma barreira efetiva para o TiO_2 , não havendo estudos da penetração de TiO_2 em pele comprometida” (IARC, 2006).

Todavia, aliadas à inclusão deste composto em formulações, encontram-se algumas desvantagens. Como consequência do seu aspeto opaco e branco, quando aplicado sobre a pele, apresenta uma aparência esbranquiçada, sendo uma característica esteticamente desagradável (Aikens, 2006).

A aparência opaca, originada pela reflexão da radiação do espectro visível (400- 700 nm), pode ser atenuada por redução do composto à nanoescala. De referir que o tamanho das partículas não poderá ser da mesma ordem de grandeza que o comprimento de onda da radiação visível. Desta forma, as partículas de TiO_2 devem exibir dimensões inferiores a 400 nm (Flor et al., 2007) para adquirirem transparência à luz visível e consequente perda das suas características de coloração esbranquiçada, perseverando ainda assim, a sua função de proteção solar (Siddiquey et al., 2008).

A utilização de TiO_2 juntamente com FSO, em NPL, é uma combinação frequentemente empregue em PS (Floyd and Macpherson, 1997), exibindo um efeito sinérgico na proteção solar, resultante da absorção de radiação UV que abrange o espectro UVA e UVB (Shi et al., 2012).

O efeito sinérgico oferece inúmeras vantagens tais como, diminuição da concentração de FSO e consequente diminuição da ocorrência de irritações causadas por alguns destes compostos, aumento do FPS e diminuição do aspeto esbranquiçado resultante do uso de quantidades elevadas de FSI (Huonga et al., 2007, Villalobos-Hernández and Müller-Goymann, 2006).

iii. Fator de Proteção Solar (FPS)

A eficácia do PS pode ser definida pela sua capacidade protetora da pele contra queimaduras solares, induzidas pelos raios UV (Wissing and Muller, 2001a), podendo ser determinada por metodologias *in vitro* e *in vivo*, através da medição do FPS (Sheu et al., 2003, González et al., 2008, Maier and Korting, 2005).

O FPS indica o número de vezes que o tempo de exposição ao sol, sem risco de eritema, pode ser aumentado com o uso do protetor (Mansur et al., 1986), sendo determinado em função da radiação causadora de eritemas, a radiação UVB. Quanto mais elevado for o FPS, mais elevada é a proteção solar e o tempo em que a pele ficará protegida (Flor et al., 2007).

O FPS é calculado através de uma razão entre o tempo de exposição à radiação UVB necessário para produzir eritema numa pele protegida pelo PS e numa pele desprotegida (Equação 1),

$$FPS = \frac{DME \text{ (na pele protegida)}}{DME \text{ (na pele desprotegida)}} \quad (1)$$

onde DME é a dose mínima de radiação capaz de produzir um eritema mínimo, expressa em KJ/min (Mansur et al., 1986).

Outra maneira de determinar o FPS é através da espectrofotometria (equação 2),

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot abs(\lambda) \quad (2)$$

onde o FC é o fator de correção (=10), determinado de acordo com dois filtros solares conhecidos e de tal forma que um creme contendo 8% de homossalato oferecesse 4 de FPS; $EE(\lambda)$ é o efeito eritemogénico da radiação de comprimento de onda (λ); $I(\lambda)$ é a intensidade do sol no comprimento de onda (λ) e absorvência (λ) corresponde à leitura espectrofotométrica da absorvência da solução do filtro solar no comprimento de onda (λ) (Mansur et al., 1986).

A segurança das formulações de PS pode ser avaliada através de técnicas *in vivo*, utilizando um modelo bicompartimental, conhecido como célula de difusão vertical e pele natural (humana ou animal) (Sekkat et al., 2002; Medi and Singh, 2003).

iv. Sílica

1. Processo sol-gel

Um sol é definido como uma dispersão de partículas coloidais (partículas sólidas com um diâmetro entre 1-100 nm) num líquido. Um gel é constituído por uma rede rígida interconectada, com poros de dimensões submicrométricas (10^{-6} m) e cadeias poliméricas (Iller, 1979).

Qualquer processo que envolva uma transição sol-gel, na qual uma solução ou sol se transforma numa massa rígida e porosa, designa-se por processo sol-gel (Klein and Scherer, 1985, Hench and West, 1990). Este processo envolve a produção de uma suspensão coloidal através de reações de hidrólise e condensação, em catálise alcalina ou ácida (Silva and Airoidi, 1997, Chen et al., 2010).

Este procedimento concede inúmeras possibilidades para o preparo de vários tipos de geles, cuja estrutura depende de numerosos fatores interdependentes como: precursores e a sua concentração, razão H₂O/alcóxido, natureza catalítica e pH, natureza do solvente, modo de mistura e maturação, temperaturas e método de secagem (Jafarzadeh et al., 2009, Sato et al., 1990, Iller, 1979, Rahman et al., 2004, Mackenzie, 2003).

Nesta técnica, o precursor utilizado para o preparo do coloide consiste num metal ou elemento metalóide, rodeado por vários ligantes, como os alcóxidos metálicos. Estes pertencem à família dos metalorgânicos, os quais têm um ligante orgânico ligado a um átomo metálico. Os exemplos mais estudados são o tetraetoxissilano ou tetraetilortossilicato (TEOS), Si(OC₂H₅)₄ e o tetrametoxissilano ou tetrametilortossilicato (TMOS), Si(OCH₃)₄ (Hench and West, 1990).

Os alcóxidos metálicos são precursores frequentemente utilizados por reagirem rapidamente com H₂O. A reação denomina-se de hidrólise, na qual um íão de hidroxilo é adicionado ao átomo do metal, libertando um álcool (Iller, 1979, Rahman et al., 2004).

A reação da hidrólise do tetraetilortossilicato (TEOS) pode ser expressa pela seguinte fórmula:



A hidrólise e a policondensação permitem a reidratação e conseqüentemente a formação do gel de alcóxido de sílica, produzindo polímeros e partículas com ligações siloxano.

Duas moléculas parcialmente hidrolisadas podem-se juntar numa reação de condensação (Sato et al., 1990), que pode ocorrer entre dois silanóis ou entre um silanol e um grupo etóxido, formando grupos siloxano (Si-O-Si) (Buckley and Greenblatt, 1994).



A condensação liberta uma molécula como H₂O ou álcool. Este tipo de reação pode continuar a suceder, dando origem a cadeias cada vez maiores, através do processo de polimerização da sílica (Buckley and Greenblatt, 1994).

2. Modificação da superfície da sílica gel

A sílica gel é uma forma de sílica não cristalina, porosa e parcialmente hidratada, formada por átomos de silício e oxigénio, na forma de silicatos combinados com alguns óxidos de metais como dióxido de silício (SiO₂). Pode ser preparada através da polimerização sol-gel dos alcóxidos de sílica e a hidrólise ocorre quando o TEOS e a água reagem na presença de um solvente, geralmente etanol (Buckley and Greenblatt, 1994).

No entanto, os grupos silanóis rapidamente começam a condensar eliminando água, dando origem aos dímeros, trímeros, e aos polímeros esféricos, também chamados de partículas primárias de sílica (Castro, 2005).

A sílica gel resulta da condensação do ácido silícico, Si(OH)₄. O seu interior é composto por átomos de silício ligados a átomos de oxigénio, ligações designadas por pontes siloxano (= Si-O-Si=), tornando-se num material amorfo, duro e poroso, formando partículas irregulares (Buckley and Greenblatt, 1994).

Na superfície de cada partícula de sílica, encontram-se grupos silanóis e grupos hidróxilo residuais do processo de condensação, os quais conferem ao composto propriedades polares, permitindo reações com outras moléculas. Os mecanismos de adsorção à superfície das partículas dependem da natureza, disposição e acessibilidade dos grupos silanóis (Jafarzadeh et al., 2009).

A reatividade dos grupos silanóis, permite modificações químicas na superfície das partículas de sílica, via reações com grupos organofuncionalizados, o que altera completamente as características físico-químicas do composto original (Iller, 1979).

As ligações principais que acontecem entre a superfície da sílica gel e as moléculas ligadas monomericamente são do tipo $=\text{Si}-\text{O}-\text{Si}=\text{}$, $=\text{Si}-\text{NH}-\text{C}=\text{e}=\text{Si}-\text{C}-\text{Si}=\text{}$. A ligação do tipo Si-C é a mais comumente usada, visto apresentar uma maior resistência à hidrólise, maior estabilidade térmica e por ocorrer em condições brandas (Iller, 1979).

A alteração química da superfície da sílica gel modifica propriedades específicas da superfície do adsorvente, possibilitando diferentes aplicações, tais como suporte de catalisadores, imobilização de enzimas, aplicações analíticas em cromatografia, pré-concentração de espécies metálicas (Buckley and Greenblatt, 1994)

Tanto a hidrólise como a condensação podem ocorrer por reações de substituição nucleófila tipo 2 catalisadas em meio básico ou ácido. A catálise em meio ácido processa-se por desprotonação rápida do $-\text{OR}$ ou $-\text{OH}$ sendo substituídos pela ligação com Si, ocorrendo preferencialmente entre os grupos silanóis, localizados em monômeros ou no final de cadeias poliméricas, levando à formação de geles compostos por cadeias poliméricas lineares entrelaçadas (Jafarzadeh et al., 2009, Buckley and Greenblatt, 1994).

Em condições básicas, o grupo hidroxilo ou o anião silanolato ataca o Si diretamente e a condensação ocorre preferencialmente entre oligômeros altamente ramificados, os quais

levam à formação de géis particulados (Jafarzadeh et al., 2009, Buckley and Greenblatt, 1994).

3. Sol-gel na proteção solar

A tecnologia sol-gel permitiu o desenvolvimento de procedimentos para a encapsulação de FS, estando comprovada em publicações a retenção efetiva dos FS em microcápsulas de sílica (Rottman et al., 2000, Chen-Yang et al., 2011).

A encapsulação dos FS, através deste método, exhibe inúmeras vantagens. Está demonstrada a capacidade que as partículas de sílica têm em refletir a luz UV e Visível (Wang et al., 2003), aumentando a reflexão dos raios UV (Nishihama et al., 2004), o que resulta numa maior proteção face a essa radiação (Chen-Yang et al., 2011).

A encapsulação dos FS resulta também em um menor potencial alergénico e maior segurança, resultante do impedimento do contacto direto entre a pele e os FS e da diminuição da penetração e retenção dos FS na pele (Rottman et al., 2000, Kullavanijaya and Lim, 2005).

Com este processo, consegue-se o isolamento e conseqüente aumento da fotoestabilidade de FS incompatíveis, os quais juntos na mesma formulação podem sofrer fenómenos de fotodegradação (Rottman et al., 2000, Lapidot et al., 2003).

A encapsulação pelo método sol-gel é também muito utilizado para revestir partículas de TiO₂, diminuindo as suas propriedades fotocatalíticas (Fujimoto et al., 2005), as quais podem originar uma forte ação oxidante e conseqüente produção de ERO, (Siddiquey et al., 2008), resultando em danos no ADN e alterações na homeostasia celular (Wamer et al., 1997).

d. Nanopartículas (NP)

i. NPL

Como o próprio nome acusa, as NPL têm uma natureza lipídica, sendo compostas por lípidos fisiológicos, biodegradáveis, com baixa citotoxicidade, boa tolerabilidade, podendo ser ceras, ácidos gordos, glicerídeos, mono-, di- e triglicerídeos, ou ambos, sólidos ou líquidos, de origem natural ou sintética (Nikolic et al., 2011).

A aplicação de diferentes lípidos para a preparação de NPL, origina diferenças em diversos parâmetros críticos como a velocidade de cristalização do lípido, solubilidade e estrutura tridimensional (Üner, 2006).

Para a estabilização estrutural das NPL é necessária a incorporação de tensioativos, preferencialmente não tóxicos, como, por exemplo, a lecitina. A sua seleção, assim como a sua concentração, tem um grande impacto na qualidade da dispersão de NPL, como tal, a escolha assertiva é fundamental para evitar os tão indesejados fenómenos de sedimentação, separação de fases e floculação (Üner, 2006, Cevc, 2004).

Existem numerosas técnicas descritas na literatura para a produção das NPL, sendo elas a homogeneização a alta pressão (HPH) a frio e a quente (Liedtke et al., 2000, Wissing et al., 2004), técnica da microemulsão (Gasco, 1993, Gasco, 1997, Priano et al., 2007), técnica emulsificação - evaporação do solvente (Sjöström and Bergenstahl, 1992) , emulsificação – difusão do solvente (Hu et al., 2002, Trotta et al., 2003), método de injeção de solvente (Schubert and Müller-Goymann, 2003), método de inversão de fases (Heurtault et al., 2002), técnica da múltipla emulsão (Garcy-Fuentes et al., 2002), ultrasonicação (Pietkiewicz and Sznitowska, 2004, Puglia et al., 2008) e técnica da membrana contratora (Charcosset et al., 2005).

A incorporação das NPL em hidrogéis encontra-se bem reportada na literatura (Doktorovova and Souto, 2009) , como, por exemplo, Carbopol 940 (Chen et al., 2010),

concedendo uma consistência adequada á formulação base de SLN/NLC (Nikolic et al., 2011)

No que se refere às vantagens da incorporação de SA em NLP podemos apontar o aumento da estabilidade das SA ou IA, conferindo-lhes proteção face à degradação físico-química (Zur Mühlen et al., 1998), possibilidade de obter um perfil libertação controlado, aumentando o efeito da SA (Podio et al., 2000, Santos Maia et al., 2002, Jenning et al., 2000).

As NPL demonstram um grande potencial em formulações para aplicação dérmica (Prow et al., 2011, Müller et al., 2007, Puglia et al., 2008, Puri et al., 2010). O seu tamanho nanométrico permite um contato mais íntimo com EC, existindo numerosas evidências quanto à sua penetração nas regiões mais altas dos folículos pilosos e nas camadas mais superficiais da epiderme, não alcançando a epiderme viável (Patlolla et al., 2010, Papakostas et al., 2011).

Apresentam capacidades oclusivas, as quais diminuem a perda de água transepidérmica devido à formação de um filme sobre a epiderme (Wissing and Muller, 2003b), resultando num aumento do grau de hidratação e elasticidade da pele (Figura 5) (Pardeike et al., 2009a, Pardeike et al., 2010, Pardeike et al., 2009b).

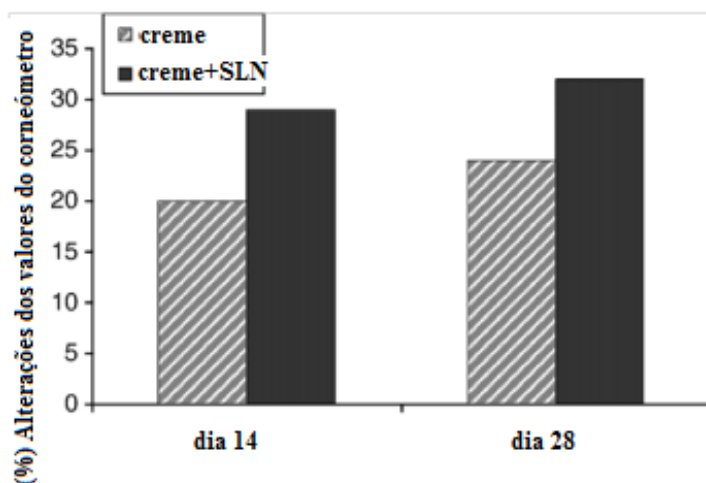


Figura 5 - Aumento da hidratação cutânea (valor do corneómetro) após a aplicação de um creme comercial e da mesma formulação contendo SLN (Müller et al., 2007).

Vários autores atestam a aptidão das NPL em aumentar o efeito de proteção solar através de um fenômeno de sinergismo, combinado com os FSO e FSI presentes nos PS (Nesseem, 2011b, Wissing and Müller, 2002a, Villalobos-Hernández and Müller-Goymann, 2006).

As NPL protegem os FSO da degradação química, através da incorporação dos FSO dentro do seu núcleo lipídico. Müller e seus colaboradores conseguiram com êxito, a incorporação de um FSO em SLN, pelo processo de HPH (Müller et al., 2002).

1. SLN

As SLN representam a primeira geração de NPL patenteadas, desenvolvidas no início dos anos 90, com o objetivo de ultrapassar limitações apresentadas por sistemas anteriores (Jain and Ram, 2011).

No processo de preparação, o lípido líquido presente numa emulsão O/A é substituído por um lípido sólido, o qual se apresenta no estado sólido á temperatura ambiente e corporal (Müller et al., 2002). O lípido sólido encontra-se num intervalo de concentrações entre 0,1% (m/m) a 30% (m/m) disperso em meio aquoso (Puri et al., 2010).

Os lípidos sólidos utilizados para produção de SLN incluem triglicerídeos (trimiristato, tripalmitato), glicerídeos como o behanato de glicerilo (Compritol® 888 ATO), monoestearato de glicerilo (Imwitor® 900) e palmitoesterato de glicerilo (Precirol® ATO 5), ácidos gordos e ceras, como o palmitato de cetilo. Estes são usados frequentemente na produção de SLN para aplicação dérmica, em concentrações entre os 5% e os 40% (Puri et al., 2010, Mandawgade and Patravale, 2008).

Na composição das SLN incluem-se também tensioativos como o poloxâmoro 188, polissorbato 80, lecitina, tiloxapol, di-estearato de poliglicerol metilglucose (Tego-

Care[®] 450), em concentrações entre os 0,5% (m/m) a 5% (m/m), os quais contribuem para a estabilização física das SLN (Puri et al., 2010).

Como relatado precedentemente, as SLN ostentam inúmeras vantagens, entre elas a proteção da SA face à degradação físico-química, perfil de libertação da SA controlado (Jenning et al., 2000) e possibilidade de produção para várias vias de administração (oral, dérmica, i.v.) (Shegokar et al., 2011).

A tolerabilidade das SLN foi evidenciada em estudos *in vivo* e *in vitro*, recorrendo ao uso de culturas celulares, comparando-se a viabilidade celular na presença de SLN e NP de poliéster (PLA/GA). Observou-se que na presença de 0,5% de NP PLA/GA a viabilidade celular era de 0% e quando aplicado 10% de SLN a viabilidade celular conseguia atingir aproximadamente os 80% (Maaben et al., 1993, Müller et al., 1996), demonstrando-se boa tolerabilidade local e baixa citotoxicidade para diferentes formulações de SLN (Lippacher et al., 2004).

Contudo, as SLN ostentam alguns inconvenientes no que refere à estabilidade durante o período de armazenamento, podendo ser minorados através da correta seleção de lípidos e de tensioativos (Westesen et al., 1993).

A cristalização dos lípidos nas SLN é distinta da cristalização enquanto matéria-prima. Nas SLN a matriz lipídica recristaliza, pelo menos parcialmente, na forma α , enquanto que o lípido enquanto matéria prima tende a recristalizar preferencialmente em modificações β' , transformando-se posteriormente na forma β , forma com nível de organização tridimensional superior (Westesen et al., 1993).

Após o período de produção das SLN a matriz lipídica, assume uma forma polimórfica metaestável, num nível elevado de energia. Durante o período de armazenamento, a matriz lipídica adota uma estrutura tridimensional com um nível de organização superior, diminuindo o número de imperfeições (formação de modificações β'/β), havendo menos espaço disponível para acomodar o IA ou SA, promovendo a sua expulsão (Teeranachaideekul et al., 2007, Bunjes et al., 1996).

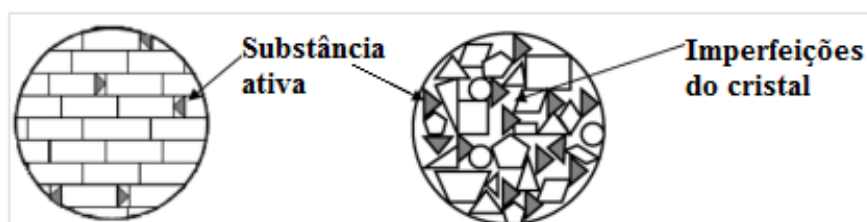


Figura 6 - Esquerda: formação de uma estrutura cristalina perfeita em SLN por moléculas com formas idênticas, similar a uma parede constituída por tijolos idênticos, com limitações na incorporação das SA. Direita: formação de uma matriz cristalina com varias imperfeições, comparada com uma parede constituída por pedras com diferentes formas. O aumento do número de imperfeições origina um aumento da capacidade de carga (Müller et al., 2007)

A utilização de lípidos mais complexos, como misturas de mono-, di- e triglicerídeos contendo ácidos gordos com cadeias de diferentes comprimentos, formam cristais mais imperfeitos oferecendo mais espaço para acomodar a SA ou IA (Figura 6) (Müller et al., 2000). A velocidade com que a matriz adquire conformações mais perfeitas é mais lenta para triglicerídeos de cadeia longa, comparativamente com os de cadeia curta (Bunjes et al., 1996)

Existem, basicamente, três modelos diferentes para a incorporação do IA nas SLN: modelo da matriz homogénea, modelo da parede enriquecida de SA e modelo do núcleo enriquecido de SA. A estrutura obtida é consequência da composição da formulação utilizada (lípidos, SA, tensioativos) e das condições do método de produção (HPH a quente ou a frio) (Mehnert and Mader, 2001).

Para avaliar a incorporação de SA ou IA nas SLN, calcula-se a sua eficácia de encapsulação (EE), sendo geralmente expressa em percentagem relacionada com a fase lipídica (matriz lipídica + SA). A EE pode ser influenciada por diversos fatores como a solubilidade e miscibilidade da SA no lípido, no seu estado fundido, características físico-químicas da matriz lipídica sólida, como por exemplo, o estado polimórfico adotado pelo material lipídico (Müller et al., 2000).

2. *NLC*

A segunda geração de NPL, as NLC, surge como tentativa de resposta às limitações das SLN. As NLC possuem uma matriz lipídica com um grau de organização tridimensional menor, levando a um aumento do espaço para acomodar o IA, aumento da capacidade de carga (CC) e consequente diminuição da sua expulsão do IA (Pardeike et al., 2009b).

O menor grau de organização tridimensional da matriz lipídica das NLC, deve-se ao facto de ser formada por uma mistura de lípido sólido e lípido líquido, ao contrário das SLN cuja matriz só inclui lípido sólido (Patlolla et al., 2010).

As NLC, tal como as SLN, demonstram ser nanossistemas promissores para aplicação dérmica (Patlolla et al., 2010), apresentando todas as vantagens já enumeradas anteriormente para as NPL (Podio et al., 2000, Wissing and Muller, 2003a, Pardeike et al., 2009b, Patlolla et al., 2010, Pardeike et al., 2010, Villalobos-Hernández and Müller-Goymann, 2006, Santos Maia et al., 2002).

ii. **SLN na Proteção Solar**

Os PS convencionais são formulados preferencialmente como emulsões (Lowe et al., 1990), mas também como géis ou soluções hidroalcoólicas (Flor et al., 2007), ostentando a desvantagem de serem, parcialmente ou completamente, removidos quando imersos em água ou em contacto com suor, devido às elevadas concentrações de agentes emulsivos ou álcool (Nikolic et al., 2011).

A pesquisa de fórmulas inovadoras para PS ocasionou o desenvolvimento de sistemas bastante promissores. O uso de SLN como uma nova geração de sistemas para transporte de FS, foi introduzido há poucos anos (Mandawgade and Patravale, 2008), incorporando-se os FS nas NPL (Wissing and Muller, 2001c, Wissing and Müller, 2002a).

Wissing e colaboradores bem como outros investigadores demonstraram a capacidade que as SLN possuem em atuar como um FSF, oferecendo proteção contra a radiação UV, através de fenómenos de dispersão da luz (Wissing and Muller, 2002, Müller et al., 2000, Nesseem, 2011b, Villalobos-Hernández and Müller-Goymann, 2006).

Encontra-se também publicado, em diversos estudos, o efeito sinérgico que as SLN apresentam na proteção solar quando combinadas com FSO (Mehnert and Mader, 2001, Wissing and Müller, 2001, Wissing and Müller, 2002c, Lippacher et al., 2004, Cengiz et al., 2006, Mader et al., 2001).

A natureza físico-química do lípido utilizado para a preparação de SLN, têm um papel decisivo no efeito de sinergismo na proteção solar (Nikolic et al., 2011), assim como o perfil de libertação da SA incorporada é influenciado pela estrutura cristalina do lípido sólido (Lukowski et al., 2000).

Aliada ao efeito sinérgico, a incorporação dos FSO em SLN, aumenta a efetividade dos FSO, reduz a concentração necessária para alcançar o mesmo nível de proteção solar, resultando na diminuição dos seus efeitos adversos (Müller et al., 2000).

Equiparando um PS com SLN com um PS convencional, consegue-se diminuir aproximadamente 50% dos FSO na emulsão com SLN, mantendo o mesmo nível de proteção solar da emulsão convencional O/A (Wissing and Muller, 2003a).

Os efeitos colaterais dos FSO devem-se, essencialmente, à sua penetração na pele. Estudos demonstram uma diminuição da penetração dos FSO em formulações de SLN comparativamente a emulsões convencionais O/A, notando-se um decréscimo da penetração aproximadamente de 40% (Wissing and Müller, 2002b, Müller et al., 2000).

A elevada afinidade das SLN para o EC, possibilita a adesão dos FS à pele como um filme protetor, aumentando a eficácia destes sistemas (Alvarez-Roman et al., 2001). Obtém-se também uma libertação sustentada dos FS, que se reverte num tempo de permanência maior na superfície da pele (Wissing and Muller, 2002).

Recentemente, a preparação e caracterização da incorporação de FS em SLN, utilizando-se como lípido sólido o palmitato de cetilo (Wissing and Muller, 2002, Wissing and Müller, 2002a, Souto and Müller, 2008, Lee et al., 2007, Lukowsky et al., 2000).

O palmitato de cetilo é muito utilizado na preparação de SLN, devido à sua biocompatibilidade e à sua estrutura tridimensional cristalina (Lukowsky et al., 2000, Wang et al., 2009, Olbrich and Müller, 1999, Mehnert and Mader, 2001, Freitas and Müller, 1998, Lippacher et al., 2004), apresentando um ponto de fusão de 49°C (Lippacher et al., 2004). Exibe uma boa estabilidade físico-química, tendo sido demonstrado que a degradação enzimática (lipase/colipase), baseada em SLN de palmitato de cetilo, é inferior quando comparado com SLN com uma matriz lipídica de glicerídeos (Olbrich and Müller, 1999).

Dingler e colaboradores produziram com êxito SLN, usando palmitato de cetilo como lípido sólido e di-estearato de poliglicerol metilglucose (TegoCare® 450) como tensoativo (Teeranachaideekul et al., 2007, Dingler et al., 1999, Dingler, 1998, Wissing and Muller, 2002), combinação que foi utilizada no presente trabalho.

II. Capítulo II - Materiais e Métodos Experimentais

a. Avaliação da solubilidade do Parsol® MCX em diferentes lípidos

A solubilidade do Parsol® MCX (octil-p-metoxicinamato ou 2-etilexil-4-metoxicinamato da Acofarma, Espanha) em diferentes lípidos sólidos (palmitato de cetilo, monoestearato de glicerilo, distearato de glicerilo, glicerídeos de coco hidrogenados e ácido esteárico) foi verificada por meio da homogeneização do Parsol® MCX em concentrações crescentes (10, 15, 20 e 25%), com o lípido fundido a temperatura de 75°C sob agitação manual. A solubilidade do Parsol® MCX foi determinada visualmente, observando a presença ou ausência de cristais do ingrediente ativo a cada 15 minutos

por um período de 1 h. A Tabela 2 sumariza os diferentes lípidos sólidos utilizados para a solubilidade do Parsol[®] MCX.

Tabela 2: Propriedades dos diferentes lípidos sólidos utilizados para a solubilização do Parsol[®] MCX

Nome comercial dos lípidos sólidos	Composição química	Temperatura de fusão/°C
Precifac ATO [®]	Palmitato de cetilo	43-53
Inwitor 900	Monoestearato de glicerilo	66-77
Precirol [®] ATO 5	Distearato de glicerilo	53-57
Witepsol [®] E 75	Glicerídeos de coco hidrogenados	38
Ácido esteárico	Ácido esteárico	69

b. Desenvolvimento das SLN

O método utilizado para a preparação das SLN foi Homogeneização a Alta Velocidade (HAV). A fase oleosa (5%), composta pelo lípido sólido palmitato de cetilo (PC) (hexadecil hexadecanoato, 98% da Sigma Aldrich, Alemanha), foi fundida a uma temperatura de 70 °C, em banho-maria, numa placa de aquecimento (Monotherm, Variamag[®]). A fase aquosa, composta por água ultra-pura e tensoativo, foi aquecida à mesma temperatura, com agitação magnética.

Quando se atingiu a mesma temperatura em ambas as fases, dispersou-se a fase aquosa na fase oleosa, e a dispersão foi homogeneizada com o auxílio de um Ultra-Turrax (IKA[®] T 25 DIGITAL Werke, Staufen, Alemanha), durante 15 minutos a 10000 rpm, mantendo a dispersão a 70°C.

Posteriormente submeteu-se a mistura a um arrefecimento rápido, transferindo-a para um banho de gelo durante 10 minutos, promovendo-se a formação de SLN por meio do choque térmico.

No desenvolvimento das SLN foram testadas 3 diferentes formulações, utilizando o lípido sólido PC, que foi selecionado a partir do ensaio de solubilidade do Parsol[®] MCX. Como tensoativos foram utilizados o TegoCare[®] 450 (T-450), Poloxâmero 188 (P-188), Tween 80 e o ácido cólico. Após o preparo, as amostras foram armazenadas a 25°C e a 4°C para posteriores análises físico-químicas. A composição final das formulações desenvolvidas encontra-se mencionada na Tabela 3.

Tabela 3: Composição das SLN desenvolvidas

Composição (%) Formulações	PC	P-188	T-450	Tween 80	Ácido cólico	Água q.b.p.
F1	5,0	1,0	-	-	-	100
F2	5,0	-	1,0	-	-	100
F3	5,0	-	-	0,8	0,2	100

c. Avaliação do diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das SLN

A determinação do tamanho das nanopartículas permite a monitorização do método de preparação, bem como a avaliação da estabilidade dos sistemas coloidais, prevendo desta forma a propensão que o sistema apresenta, ou não, para fenómenos de floculação e sedimentação (Müller-Goymann, 2004) . O índice de polidispersão representa a qualidade da dispersão, permitindo avaliar a homogeneidade da distribuição do tamanho das partículas num determinado sistema. Valores de $PI \leq 0,3$ indicam uma distribuição de tamanho monodispersa (Martins et al., 2012, Wu et al., 2011, Kovacevic et al., 2011).

O diâmetro médio e o índice de polidispersão foram medidos por espectroscopia de correlação de fotónica (PCS), também denominada técnica de espalhamento de luz, ou (*Dynamic Light Scattering*) (DLS) (Zetasizer Nano-ZS, Malvern Instruments, UK-Malvern) a 25°C sob um ângulo de 173°C. As amostras foram diluídas com água ultra-pura. Para isso retirou-se 5µL da dispersão, diluindo-se em 1 mL de H₂O. As medidas

foram realizadas em triplicado com 10 determinações de diâmetro médio para cada uma delas.

O potencial zeta reflete a carga de superfície das nanopartículas, sendo influenciado pela sua composição, meio dispersante, pH e forças iônicas presentes na solução, determinando a tendência que as partículas têm para flocular num meio líquido. Assim, fenômenos de floculação e sedimentação são mais difíceis de ocorrer em partículas carregadas eletricamente, consequência do efeito de repulsão elétrica (Attama et al., 2007).

Quanto mais elevado for o valor do potencial (em módulo) mais estável será o sistema, verificando-se uma boa estabilidade física para sistemas com valores de potencial pelo menos ± 30 mV (Souto et al., 2004).

Este conceito, deixa de ser tão linear em sistemas que contenham estabilizadores estéricos, na sua maioria tensioativos não iônicos. Estes oferecem ao sistema uma boa estabilidade física, mesmo na presença de potenciais zeta baixos. A adsorção dos estabilizadores estéricos às nanopartículas pode resultar num decréscimo do potencial zeta (Cavalli et al., 2000, Wiesendanger and Guntherodt, 1992, Heurtault, 2003, Wu et al., 2011).

O potencial zeta foi determinado por meio da mobilidade eletroforética das partículas utilizando o mesmo aparelho para medição dos parâmetros acima descritos. Deste modo, para a verificação das medidas de potencial, as amostras foram diluídas em água ultrapura ajustando a condutividade ($50 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) com cloreto de sódio (0.1% m/v).

d. Desenvolvimento das SLN-Parsol[®] MCX revestidas com sílica

Optou-se pela F2 para a preparação das SLN com incorporação do Parsol[®] MCX e revestimento com sílica. O método utilizado para o desenvolvimento desta formulação foi HAV, descrito anteriormente.

O lípido PC (4%, m/m) e o T-450 (1%, m/m) foram aquecidos a temperatura próxima a 70°C para a completa fusão dos componentes. Após a fusão, o Parsol[®] MCX (1%, m/v) e o precursor TEOS (1%, m/v) (tetraetil ortosilicato 99,9% da Merk, Alemanha) foram adicionados a fase oleosa. A fase aquosa, constituída somente por água ultra-pura foi colocada a aquecer à mesma temperatura e condições que a fase oleosa.

Quando ambas as fases atingiram a mesma temperatura, adicionou-se a fase aquosa à oleosa, submetendo a dispersão a homogeneização no Ultra-Turrax durante 1 hora, a 10000 rpm. De seguida, procedeu-se ao arrefecimento rápido da dispersão, em banho de gelo, durante 10 minutos.

e. Análise da estabilidade física das formulações contendo SLN e SLN-Parsol[®] MCX revestida com sílica

As amostras foram armazenadas a 20-25°C, realizando-se mediações do diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das partículas utilizando-se a técnica *DLS*, durante o período de 1 mês.

f. Análise morfológica das formulações contendo SLN e SLN-Parsol[®] MCX revestidas com sílica

As formulações desenvolvidas foram submetidas à microscopia de ótica (Eclipse 50i, Nikon, Japan), com o objetivo de avaliar a morfologia das partículas. As imagens foram capturadas por uma Nikon Eclipse 50i *Fluorescence Microscope* (40×) equipada com uma câmara digital e processada usando Nikon ACT-2U[®] *software*.

g. Incorporação das SLN- Parsol[®] MCX revestidas com sílica em hidrogel de Carbopol

Para preparação do hidrogel utilizou-se o Carbopol 934 (1%) (Lubritol, Bélgica) foi disperso na fase aquosa, constituída por água destilada, Nipagin (0,1%) e Glicerina (5%) (acofarma[®], Espanha), sob agitação suave e contínua. Para a neutralização do meio, utilizou-se NaOH a 10% até se atingir um pH=7.

Uma vez preparado o hidrogel adicionou-se o TiO₂ (Guinama, Espanha), filtro solar físico, numa quantidade de 6% com o auxílio de um almofariz.

Posteriormente, adicionou-se 20 ml da formulação SLN- Parsol[®] MCX revestidas com sílica a 10g do hidrogel de Carbopol, seguindo-se de agitação mecânica no Unguator (Cito-Unguator, Gaco International, UK) durante 1 minuto. Após a incorporação, a amostra foi acondicionada a 5°C, 20-25°C e 45°C para análises físico-químicas posteriores. Deste modo, a formulação passou a ser denominada de emulgel.

h. Estabilidade física do Emulgel

As amostras foram avaliadas de acordo com as propriedades organolépticas, através da visualização, considerando qualquer alteração em relação a cor, odor e separação de fases. Avaliou-se a estabilidade do emulgel, durante um período de 2 meses de armazenamento, a três temperaturas diferentes 5°C, 20-25°C e 45°C, utilizando critérios de avaliação adaptados por Buhler e colaboradores (Buhler, et al., 2008).

i. Análise morfológica do emulgel

O emulgel foi também submetido à microscopia de ótica, utilizando o mesmo método descrito para as formulações anteriores.

III. Capítulo III - Resultados e Discussão

a. Análise da solubilidade do Parsol[®] MCX em diferentes lípidos

A análise da solubilidade do Parsol[®] MCX nos diferentes lípidos sólidos foi realizado com o objetivo de selecionar os lípidos mais adequados para desenvolver nanopartículas com elevada capacidade de encapsulação do ingrediente ativo. Cinco tipos de lípidos sólidos com distintas propriedades físico-químicas foram selecionados como listado na Tabela 4.

Não se verificou qualquer dificuldade na solubilização do Parsol[®] MCX nas concentrações de 10, 15 e 20% nos lípidos selecionados, tendo-se observado a sua completa solubilização aos quinze minutos. No entanto, com a concentração de 20%, a solubilização do Parsol[®] MCX foi completa após 30 minutos nos lípidos monoestearato de glicerilo e distearato de glicerilo (Tabela 4).

Deste modo, o lípido sólido selecionado para o desenvolvimento das SLN foi o palmitato de cetilo devido à elevada afinidade com o Parsol[®] MCX, além das excelentes características que ostenta para produção de SLN, especificamente para formulações tópicas (Lukowski et al., 2000, Mehnert and Mader, 2001, Pardeike et al., 2009b, Puri et al., 2010, Freitas and Müller, 1998).

Tabela 4: Análise da solubilidade do Parsol a 25%

Lípidos sólidos utilizados	15 min	30 min	45 min	60 min
Palmitato de cetilo	+	+	+	+
Monoestearato de glicerilo	-	+	+	+
Distearato de glicerilo	-	+	+	+
Ácido esteárico	+	+	+	+
Glicerídeos de coco hidrogenados	+	+	+	+

(+) Solúvel; (-): insolúvel

b. Desenvolvimento das SLN

As SLN foram preparadas com sucesso pelo método escolhido. As formulações apresentaram uma observação macroscópica satisfatória, verificando-se algumas diferenças na textura.

A F2 apresentou uma textura leitosa, mais homogênea, aderindo menos à superfície do recipiente, comparativamente às outras formulações desenvolvidas.

c. Análise do diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das SLN desenvolvidas

As formulações F1, F2 e F3 diferem quanto ao tipo de tensioativo utilizado para a preparação das SLN. Verificaram-se desigualdades nos parâmetros avaliados nas diferentes formulações, os quais se encontram mencionados na Tabela 5.

A F2 apresentou valores de PZ ($-9,6 \pm 0,0$ mV) e PI ($0,30 \pm 0,04$) mais vantajosos no que refere à estabilidade física. De salientar que o valor do índice de polidispersão da F2 é indicativo de uma população com uma homogeneidade satisfatória, ao contrário das demais formulações.

Quanto ao tamanho, as nanopartículas apresentaram resultados bastante satisfatórios nas diferentes formulações, encontrando-se completamente dentro do intervalo nanométrico. A F2 apresentou nanopartículas com menores dimensões.

Considerando os resultados obtidos, a F2 foi selecionada para o desenvolvimento da formulação contendo SLN- Parsol[®] MCX revestidas com sílica.

Tabela 5 – Resultados da análise do diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das SLN

Formulações	Diâmetro médio (nm)	Índice de polidispersão	Potencial Zeta (mV)
F1	320,9±9,1	0,419±0,031	-2,67±0,0
F2	243,1±1,5	0,300±0,041	-9,60±0,0
F3	387,7±31,2	0,444±0,086	-6,50±0,0

d. Desenvolvimento das SLN-Parsol[®] MCX revestidas com sílica

O método utilizado foi satisfatório para a preparação das SLN. Apresentando boas características macroscópicas, no que se refere à textura, odor e cor, no momento de preparação e ao longo dos trinta dias de armazenamento.

e. Análise do diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das formulações SLN e SLN-Parsol revestidas com sílica

Os resultados obtidos encontram-se mencionados na tabela 6. Os diâmetros médios das nanopartículas obtidos para a F2 e a formulação revestida encontram-se dentro do intervalo nanométrico. Durante o período de armazenamento (trinta dias) não se verificaram alterações significantes neste parâmetro, sendo indicativo de uma boa estabilidade (Wu et al., 2011).

Os tamanhos obtidos não foram muito divergentes na F2 e na formulação revestida, atingindo-se nanopartículas de menores dimensões nesta última. Isto indica que a incorporação do Parsol[®] MCX e o revestimento com sílica não provocou o aumento das dimensões das SLN, provocando mesmo um pequeno decréscimo.

Quanto ao potencial zeta, ambas as formulações obtiveram valores baixos. Estes resultados podem ser resultado das interações do lípido sólido com o tensoativo

(Heurtault, 2003), como também da baixa concentração de lípido sólido utilizado em ambas as formulações (5% na F2 e 4% na formulação SLN-Parsol revestidas com sílica) (Kovacevic et al., 2011).

Souto e os colaboradores, investigaram preparações de SLN contendo palmitato de cetilo a 20% e T-450 como tensioativo a 1.8%, obtendo valores de potencial zeta acima dos -30 mV. Este procedimento conferiu uma elevada estabilidade física as SLN durante o período de 21 dias de armazenamento a 4, 20 e 45°C (Souto et al., 2005).

O revestimento com sílica não alterou, nem resultou em valores de potencial zeta elevados, possivelmente porque o pH da formulação (pH=6) se encontrava bastante perto do ponto isoelétrico da sílica (pH 2).

Um possível decréscimo no pH ao longo do tempo de armazenamento poderá ter provocado a alteração do sinal do potencial na formulação revestida ao final de um mês (de $-6,93 \pm 0,74$ mV para $+4,02 \pm 0,792$ mV). A inversão do potencial zeta poderá também ter ocorrido devido às interações dos grupos silanóis presentes na superfície da sílica com o tensioativo não-iónico (Sharma, et al., 2010) por meio de ligações de hidrogénio (Gao et al., 2009).

Contudo estes valores de potencial zeta não são indicativos absolutos de uma má estabilidade. O tensioativo utilizado, T- 450, é um tensioativo não-iónico. Estes não contribuem com carga elétrica à superfície da partícula, podendo mesmo provocar um decréscimo no valor absoluto do potencial zeta, mas em contrapartida oferecem ao sistema um outro tipo de estabilização, a estabilização estérica (Legrand et al., 1999, Müller et al., 1997, Santander-Ortega et al., 2006).

Na presença de estabilizadores estéricos, como é o caso dos tensioativos não iónicos, o potencial deixa de ser um parâmetro fundamental para estabilização física do sistema, mesmo com valores baixos de potencial zeta o sistema pode apresentar uma boa estabilidade ao longo do tempo (Wu et al., 2011, Kovacevic et al., 2011).

Tabela 6 – Estabilidade física das formulações SLN e SLN- Parsol® MCX revestidas com sílica

F2	Diâmetro médio (nm)	Índice de polidispersão	Potencial Zeta (mV)
Dia 0	243,1±1,5	0,300±0,041	-9,60±0,0
1 Semana	248,4±5,2	0,326±0,044	-9,50±0,11
2 Semanas	248,1±2,1	0,361±0,022	-8,50±0,38
1 Mês	248,0±4,5	0,353±0,011	-12,00±0,2

Formulação com revestimento	Diâmetro médio (nm)	Índice de polidispersão	Potencial zeta (mV)
Dia 0	210,0±3,3	0,264±0,009	-6,93±0,74
1 Semana	216,4±5,3	0,296±0,009	-5,19±0,13
2 Semanas	214,3±1,8	0,290±0,026	-8,03±0,43
1 Mês	207,2±5,5	0,287±0,027	+4,02±0,79

f. Análise morfológica das formulações contendo SLN e SLN-Parsol® MCX revestidas com sílica

As imagens da F2 e da formulação com SLN-Parsol® MCX revestidas com sílica (Figura 7) ilustram a forma esférica das nanopartículas, assim como uma camada de revestimento, possivelmente de tensoativo e/ou sílica. De referir que na formulação com revestimento (Figura 7b) é mais visível a forma esférica das nanopartículas, assim como a camada de revestimento e o núcleo das nanopartículas, ilustrando a possível incorporação do Parsol® MCX, quando comparamos com as partículas de SLN vazias (Figura 7a).

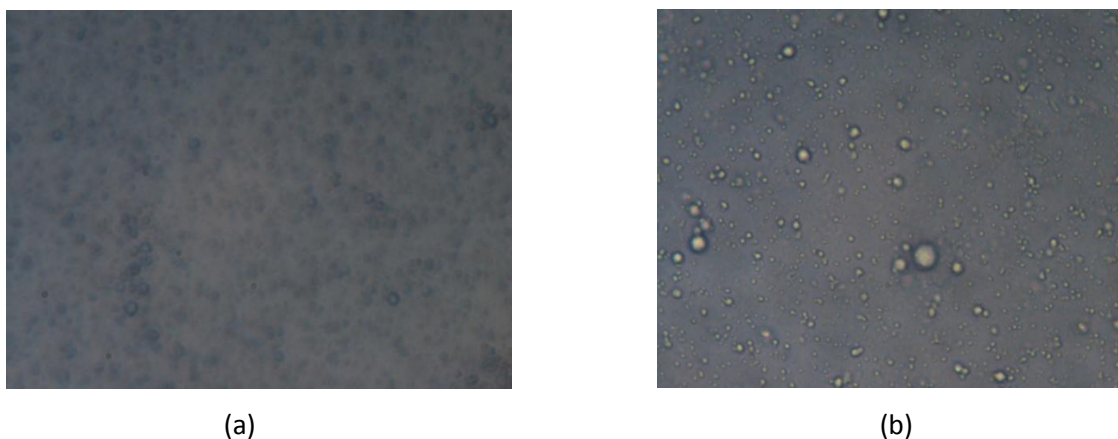


Figura 7 - Microscopia de ótica das SLN (a) e SLN-Parsol[®] MCX revestidas (b)

g. Preparação do Emulgel

A formulação SLN- Parsol[®] MCX revestida com sílica foi incorporada num hidrogel de Carbopol para uma aplicação tópica conveniente. As dispersões líquidas de SLN normalmente necessitam de ser incorporadas em veículos semissólidos, hidrogéis i.e. Carbopol (Gulsen and Chauhan, 2005, Chen et al., 2007), para obtenção de uma consistência adequada para aplicação tópica (Ceulemans et al., 1999, Souto et al., 2004, Peltola et al., 2003, Valenta and Schultz, 2004).

O método de preparação foi bem-sucedido. O hidrogel de Carbopol apresentou uma consistência e características macroscópicas adequadas. A incorporação do TiO₂ deveu-se às suas características, já anteriormente referidas, de filtro solar físico. A incorporação foi satisfatória, resultando numa mistura com aspeto homogéneo.

Por fim, o método utilizado para a incorporação das SLN no hidrogel foi bem-sucedido, obtendo-se uma mistura homogénea, com consistência e características organolépticas adequadas.

h. Estabilidade física do Emulgel

As amostras foram avaliadas durante um período de armazenamento de 60 dias e conforme os resultados apresentados na Tabela 6 não se verificaram alterações em nenhum dos parâmetros, nas amostras acondicionadas a 5 e a 20-25°C.

No entanto, as amostras que permaneceram expostas a temperatura de 45°C apresentaram uma leve modificação no odor a partir do 15º dia e permanecendo estável até o 60º dia. Essas alterações no odor podem ser devido a ausência de antioxidantes na formulação, sugerindo que os odores podem ser resultados de reações de oxidação.

Tabela 7 – Resultados obtidos da avaliação da estabilidade do emulgel

Emulgel			
Dia 0	5°C	20-25°C	45°C
Aparência	N	N	N
Cor	N	N	N
Odor	N	N	N
1 Semana	5°C	20-25°C	45°C
Aparência	N	N	N
Cor	N	N	N
Odor	N	N	N
2 Semanas	5°C	20-25°C	45°C
Aparência	N	N	N
Cor	N	N	N
Odor	N	N	LMO

1 Mês	5°C	20-25°C	45°C
Aparência	N	N	N
Cor	N	N	N
Odor	N	N	LMO
2 Meses	5°C	20-25°C	45°C
Aparência	N	N	N
Cor	N	N	N
Odor	N	N	LMO

N: Normal; LMO: leve modificação no odor;

i. Análise morfológica emulgel

Na Figura 8 podemos ver a morfologia esférica das nanopartículas, assim como a camada de revestimento. De referir que a visualização é menos clara comparativamente às imagens da formulação sem incorporação no hidrogel, situação que já se conjecturava, devido ao aumento da viscosidade e opacidade provocada pelo hidrogel e TiO_2 , respetivamente.

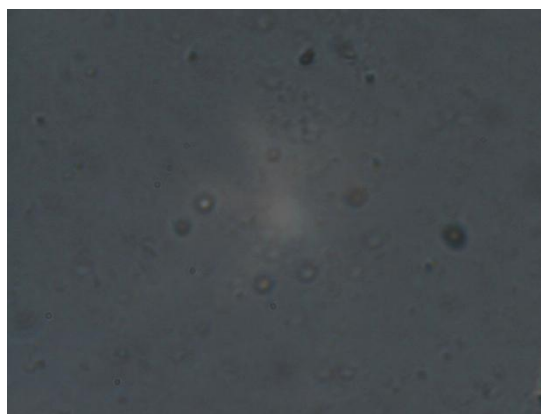


Figura 8 – Microscopia de ótica do Emulgel

IV. Conclusão

A exposição solar pode acelerar o envelhecimento cutâneo devido à geração de ROS induzida pela radiação UV, bem como causar inúmeros tipos de cancro de pele. Os crescentes avanços na área da dermocosmética implicam no desenvolvimento de novos sistemas para prevenir e reverter estes processos.

As SLN têm sido amplamente exploradas na área dermatocsmética para a incorporação de filtros solares, demonstrando inúmeras vantagens em relação aos tratamentos convencionais incluindo, menos efeitos adversos, baixo custo de produção e simples tecnologia.

No presente trabalho, o lípido sólido utilizado para produção das SLN foi o PC, selecionado através do ensaio de solubilidade do Parsol[®] MCX. A escolha baseou-se na sua elevada solubilidade demonstrada para o Parsol[®] MCX, assim como nas suas ótimas características para o desenvolvimento de SLN, especificamente para aplicação dérmica (Pardeike et al., 2009b, Puri et al., 2010, Lukowsky et al., 2000)

A F2 foi selecionada para a produção de SLN-Parsol[®] MCX com revestimento de sílica, devido às suas características macroscópicas bastante satisfatórias e aos resultados obtidos na avaliação físico-química (diâmetro medio, potencial zeta e índice de polidispersão).

A incorporação do Parsol[®] MCX e o revestimento com sílica não alterou significativamente os parâmetros físico-químicos da F2. A formulação SLN-Parsol[®] MCX obteve resultados indicativos de uma boa estabilidade físico-química ao longo do tempo de armazenamento (um mês).

Ambas as formulações foram submetidas à microscopia de ótica, onde se pode observar nitidamente a forma esférica das nanopartículas, a possível incorporação do Parsol[®] MCX e uma camada de revestimento possivelmente de T-450 e/ou da sílica.

Os resultados obtidos na avaliação físico-química das SLN e SLN- Parsol[®] MCX com revestimento indicam que o método utilizado para a preparação das nanopartículas, HAV, foi bem-sucedido resultando em partículas com características físico-químicas dentro dos parâmetros nanométricos pretendidos.

A incorporação da formulação SLN-Parsol[®] MCX com revestimento num veículo semissólido, neste caso hidrogel, teve como objetivo a obtenção de uma consistência adequada da formulação para aplicação tópica. O Emulgel demonstrou uma estabilidade bastante satisfatória ao longo do tempo de armazenamento (2 meses).

Pode-se concluir que no presente trabalho produziu-se, com êxito, uma formulação de SLN com incorporação do Parsol[®] MCX e revestimento de sílica, outros testes com elevada relevância estão a ser validados para posterior comprovação da eficácia do emulgel.

V. Referencias Bibliográficas

- Aikens, P. (2006). Nanomateriais proporcionam proteção solar de amplo espectro. *Cosmetics and Toiletries*, 18, pp. 60-64.
- Al-Amoudi, A., DUBOCHET, J. & NORLEIN, L. (2005). Nanostructure of the epidermal extracellular space as observed by cryo-electron microscopy of vitreous sections of human skin. *The Journal of Investigative Dermatology*, 124, pp. 764-777.
- Allen, T. M. & Moase, E. H. (1996). Therapeutic opportunities for targeted liposomal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 21, pp. 117-133.
- Alvarez-Roman, R., Barrè, G., Guy, R. H. & Fessi, H. (2001). Biodegradable polymer nanocapsules containing a sunscreen agent: Preparation and photoprotection. *European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52, pp. 191-195.
- Attama, A. A., Schicke, B. C., Paepenmüller, T. & Müller-Ggoymann, C. C. (2007). Solid lipid nanodispersions containing mixed lipid core and a polar heterolipid: Characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67, pp. 48-57.
- Barrolli, B. (2010). Penetration of Nanoparticles and Nanomaterials in the Skin: Fiction or Reality? *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99, pp. 21-50.
- Baron, E. D., Kirkland, E. B. & Domingo, D. S. (2008). Advances in photoprotection. *Dermatology Nurses's Journal*, 20, pp. 265-272.
- Bouwstra, J. A., Honeywell-Nguyen, P. L., Gooris, G. S. & Ponec, M. (2003). Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. *Progress in Lipid Research*, 42, pp. 1-36.

- Buckley, A. M. & Greenblatt, M. (1994). The Sol-Gel Preparation of Silica Gels. *Journal of Chemical Education*, 71, pp. 599-602.
- Buhler, F. V., Ferreira, J. R. N. (2008). Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações contendo extratos de *Ilex paraguariensis* St.Hil. a 5 e 10%. *Reviews of Perspective*, 32, pp. 47-55.
- Bunjes, H., Westesen, K. & Koch, M. H. (1996). Crystallization tendency and polymorphic transitions in triglyceride nanoparticles. *International journal of Pharmaceutics*, 129, pp. 159-173.
- Candi, E., Schmidt, R. & Melino, G. (2005). The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nature Reviews Molecular cell biology*, 6, pp. 328-340.
- Carlotti, M. E., Sapino, S., Vione, D., Pelizzetti, E., Ugazio, E. & Morel, S. (2005). Study on the Photostability of Octyl-p-Methoxy Cinnamate in SLN. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 26, pp. 809-816.
- Caubet, C., Jonca, N., Brattsand, M., Guerrin, M., Bernard, D., Schmidt, R., Egelrud, T., Simon, M. & Serre, G. (2004). Degradation of corneodesmosome proteins by two serine proteases of the kallikrein family, SCTE/KLK5/hK5 and SCCE/KLK7/hK7. *Journal Investigative Dermatology*, 122, pp. 1235-1244.
- Cavalli, R., Caputo, O. & Gasco, M. (2000). Preparation and characterization of solid lipid nanospheres containing paclitaxel. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 10, pp. 305-309.
- Cengiz, E., Wissing, S. A., Muller, R. H. & Yazan, Y. (2006). Sunblocking efficiency of various TiO₂-loaded solid lipid nanoparticle formulations. *International Journal of Cosmetic Science*, 28, pp. 371-378.

- Ceulemans, J., Santvliet, L. & Ludwig, A. (1999). Evaluation of continuous shear and creep rheometry in the physical characterisation of ointments. *International Journal of Pharmaceutics*, 176 pp. 187-202.
- Cevc, G. (2004). Lipid vesicles and other colloids as drug carriers on the skin. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, pp. 675-711.
- Charcosset, C., El-Harati, A. & Fessi, H. (2005). Preparation of solid lipid nanoparticles using a membrane contactor. *Journal of Controlled Release*, 108, pp. 112-120.
- Chen-Yang, Y. W., Chen, Y. T., Li, C. C., Yu, H. C., Chuang, Y. C., Su, J. H. & Lin, Y. T. (2011). Preparation of UV-filter encapsulated mesoporous silica with high sunscreen ability. *Materials Letters*, 65, pp. 1060-1062.
- Chen, H., Xiao, L., Du, D., Mou, D., H., X. & Yang, X. (2010). A facile construction strategy of stable lipid nanoparticles for drug delivery using a hydrogel-thickened microemulsion system. *Nanotechnology*, 21, pp. 1-9.
- Chen, H. B., Chang, X. L., Du, D. R., Dan, D. D., Mou, D. S., Liu, J., Xu, H. B. & Yang, X. L. (2007). Hydrogel-thickened microemulsion for topical administration of drug molecule at extremely low concentration. *International Journal of Pharmaceutics*, 341, pp. 78-84.
- Clydesdale, G. J., Dandie, G. W. & Muller, H. K. (2001). Ultraviolet light induced injury: Immunological and inflammatory effects. *Immunology and Cell Biology*, 79, pp. 547-568.
- Cua, A. B., Wilhelm, K. P. & Maibach, H. I. (1990). Elastic properties of human skin: relation to age, sex and anatomical region. *Archives Dermatology Research*, 282, pp. 283-288.

- Deflandre, A. & Lang, G. (1988). Photostability assessment of sunscreens. Benzylidene camphor and dibenzoylmethane derivatives. *International Journal of Cosmetic Science*, 10, pp. 53-62.
- Diffey, B. L. (1991). Solar ultraviolet radiation effects on biological systems *Physics in Medicine and Biology*, 36, pp. 299-328.
- Diffey, B. L. & Grice, J. (1997). The influence of sunscreen type on photoprotection. *British Journal of Dermatology*, 137, pp. 103-105.
- Dingler, A. (1998). Feste Lipid-Nanopartikel als kolloidale Wirkstoffträgerssysteme zur dermalen Applikation.
- Dingler, A., Blum, R. P., Niehus, H., Muller, R. H. & Gohla, S. (1999). Solid lipid nanoparticles (SLNTM/LipopearlsTM) - a pharmaceutical and cosmetic carrier for the application of vitamin E in dermal products. *Journal of Microencapsulation*, 16, pp. 751-767.
- Doktorovova, S. & Souto, E. B. (2009). Nanostructured lipid carrier-based hydrogel formulations for drug delivery: a comprehensive review. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 6, pp. 165-176.
- Downing, D. T., Stewart, M. E., Wertz, P. W., Colton, S. W., Abraham, W. & Strauss, J. S. (1987). Skin lipids: an update. *The journal of investigative dermatology*, 88, pp. 2-6.
- Einspahr, J. G., Alberts, D. S., Warneke, J. A., Bozzo, P., Basye, J., Grogan, T. M., Nelson, M. A. & Bowden, G. T. (1999). Relationship of p53 Mutations to Epidermal Cell Proliferation and Apoptosis in Human UV-Induced Skin Carcinogenesis. *Neoplasia*, 1 pp. 468-475.
- El-Toni, A. M., Yin, S., Sato, T., Ghannam, T., Al-Hoshan, M. & Al-Salhi, M. (2010). Investigation of photocatalytic activity and UV-shielding properties for silica

- coated titania nanoparticles by solvothermal coating. *Journal of Alloys and Compounds*, 508, pp. 1-4.
- Elias, P. M. (2005). Stratum corneum defensive functions: An integrated view. *Journal of Investigation Dermatology*, 125, pp. 183-200.
- Elias, P. M. & Menon, G. K. (1991). Structural and lipid biochemical correlates of the epidermal permeability barrier. *Advances Lipid Research*, 24, pp. 1-26.
- Fitzpatrick, J. & Aeling, J. L. (2000). *Segredos em Dermatologia* Porto Alegre.
- Flor, J., Davolos, M. R. & Correa, M. A. (2007). PROTETORES SOLARES. *Quimica Nova*, 30, pp. 153-158.
- Floyd, D. T. & Macpherson, B. A. (1997). Formulation of sun protection emulsions with enhanced SPF response. *Journal Cosmetics And Toiletries*, 112, pp. 55-64.
- Freitas, C. & Müller, R. H. (1998). Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLNTM). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 46, pp. 145-151.
- Fujimoto, M., Ohno, T., Suzuki, H., Koyama, H. & Tanaka, J. (2005). Nanostructure of TiO₂ Nano-Coated SiO₂ Particles. *Journal of the American Ceramic Society*, 88, pp. 3264-3266.
- Gao, G., Zou, H., Liu, D., Miao, L., Ji, G. & Gan, S. (2009). Influence of surfactant surface coverage and aging time on physical properties of silica nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical And Engineering Aspects*, 350, pp. 33-37.
- Garcy-Fuentes, M., Torres, D. & Alonso, M. (2002). Design of lipid nanoparticles for the oral delivery of hydrophilic macromolecules. *Colloid Surfaces B. Biointerfaces*, 27, pp. 159-168.

- Gasco, M. R. (1993). Method for producing solid lipid microspheres having a narrow size distribution. USA patent application.
- Gasco, M. R. (1997). Solid lipid nanospheres from warm microemulsion. *Pharmaceutical Technology Europe*, 9, pp. 32-42.
- Goldsmith, L. A. (1991). Physiology, biochemistry, and molecular biology of the skin, Oxford university press.
- González, S., Fernández-Lorente, M. & Gilaberte-Calzada, Y. (2008). The latest on skin photoprotection. *Clinics in Dermatology*, 26, pp. 614-626.
- Goodman, M. F. (2002). Error-prone repair DNA polymerases in prokaryotes and eukaryotes. *Annual Review of Biochemistry*, 71, pp. 17- 50.
- Gueymard, C. A., Myers, D. & Emery, K. (2002). Proposed reference irradiance spectra for solar energy systems testing. *Solar Energy*, 73, pp. 443-467.
- Gulsen, D. & Chauhan, A. (2005). Dispersion of microemulsion drops in HEMA hydrogel: a potential ophthalmic drug delivery vehicle. *International Journal Pharmaceutics*, 292, pp. 95-117.
- Chang, H., Sander, C. S., Müller, C. S. L., Elsner, P., Thiele, J. J. (2002). Detection of Poly(ADP-Ribose) by Immunocytochemistry: A Sensitive New Method for the Early Identification of UVB- and H₂O₂-Induced Apoptosis in Keratinocytes. *Biological Chemistry*, 383, pp. 703-708.
- Hadgraft, J. (2001). Skin, the final frontier. *Internacional Journal of Pharmaceutics*, 224, pp. 1-18.
- Hanno, I., Anselmi, C. & Bouchemal, K. (2011). Polyamide Nanocapsules and Nanoemulsions Containing Parsol® MCX and Parsol® 1789: In Vitro Release, Ex

- Vivo Skin Penetration and Photo-Stability Studies. *Pharmaceutical Research*, pp. 1-15.
- Heck, D. E., Gerecke, D. R., Vetrano, A. M. & Laskin, J. D. (2004). Solar ultraviolet radiation as a trigger of cell signal transduction. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 195, pp. 288- 297.
- Hench, L. L. & West, J. K. (1990). The Sol-Gel Process. *Chemical Reviews*, 90, pp. 33-72.
- Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J. E. & Benoit, J. P. (2002). A novel phase inversionbased process for the preparation of lipid nanocarriers. *Pharmaceutical Research*, 19, pp. 875-880.
- Heurtault, B. E. A. (2003). Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*, 24, pp. 4283-4300.
- Hu, F. Q., Yuan, H., Zhang, H. H. & Fang, M. (2002). Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, 239, pp. 121-128.
- Huanga, S. R., Andrieu, V. & Reynier, J. P. (2007). The Photoisomerization of the sunscreen ethylhexyl p-methoxy cinnamate and its influence on the sun protection factor. *Journal of photochemistry and photobiology A: chemistry*, 186, pp. 65-70.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), (2006).
- Iller, R. K. (1979). The chemistry of silica, New York, Wiley.

- Jafarzadeh, M., Rahman, I. A. & Sipaut, C. S. (2009). Synthesis of silica nanoparticles by modified sol-gel process: the effect of mixing modes of the reactants and drying techniques. *Journal of Sol-Gel Science Technology*, 50, pp. 328-336.
- Jain, N. K. & Ram, A. (2011). Development and characterization of nanostructured lipid carriers of oral hypoglycemic agent: selection of surfactants 7.
- Jenning, V., Gysler, A., Schäfer-Korting, M. & Gohla, S. H. (2000). Vitamin A-loaded solid lipid nanoparticles for topical use: drug release properties. *Journal Control Release*, 66, pp. 115-126.
- Junqueira, L. C. U. & Carneiro, J. (1999). *Histologia Básica*, Rio de Janeiro, Guanabara.
- Kierszenbaum, A. L. (2002). An introduction to pathology. *In: MOSBY (ed.) Histology and cell biology*, St. Louis.
- Kimura, K. & Katoh, T. (1995). Photo allergic contact dermatitis from the sunscreen ethylhexyl-p-methoxycinnamate (parsol MCX). *Contact Dermatitis*, 32, pp. 304-305.
- Klein, L. C. & Scherer, G. W. (1985). Sol-gel Processing of Silicates. *Annual Review of Materials Science*, 15, pp. 227.
- Koch, P. J. & Franke, W. W. (1994). Desmosomal cadherins: another growing multigene family of adhesion molecules. *Current opinion in cell biology*, 6, pp. 682-687.
- Kovacevic, A., Savic, S., Vuleta, G., Muller, R. H. & Keck, C. M. (2011). Polyhydroxy surfactants for the formulation of lipid nanoparticles (SLN and NLC): Effects on size, physical stability and particle matrix structure. *International Journal of Pharmaceutics*, 406, pp. 163-172.

- Kullavanijaya, P. & Lim, H. W. (2005). Photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 52, pp. 937-958.
- Kunz, P. Y. & Fent, K. (2006). Estrogenic activity of UV filter mixtures. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 217, pp. 86-99.
- Labouta, H. I. & Schneider, M. (2012). Interaction of inorganic nanoparticles with the skin barrier: current status and critical review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, pp. 1-16.
- Lapidot, N., Gans, O., Biagini, F., Sosonkin, L. & Rottman, C. (2003). Advanced Sunscreens: UV Absorbers Encapsulated in Sol-Gel Glass Microcapsules. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 26, pp. 67-72.
- Lautenschlager, S., Wulf, H. C. & Pittelkow, M. R. (2007). Photoprotection. *Lancet*, 370, pp. 528-537.
- Lee, G. S., Lee, D. H., Kang, K., Lee, C., Pyo, H. B. & Choi, T. B. (2007). Preparation and characterization of bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine (BEMT) loaded solid lipid nanoparticles (SLN). *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 13, pp. 1180-1187.
- Leffell, D. J. (2000). The scientific basis of skin cancer. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 42, pp. 18-22.
- Legrand, P., Barratt, G., Mosqueira, V., Fessi, H. & Devissaguet, J. P. (1999). Polymeric nanocapsules as drug delivery systems: a review. *Pharma Sci.*, 9, pp. 411-418.
- Liedtke, S., Wissing, S., Müller, R. H. & Mader, K. (2000). Influence of high pressure homogenisation equipment on nanodispersions characteristics. *International Journal of Pharmaceutics*, 196, pp. 183-185.

- Lim , H. W. & Soter, N. A. 1992. *Photomedicine for Clinical Dermatologists*, New York, Marcel Dekker.
- Lippacher, A., Müller, R. H. & Mäder, K. (2004). Liquid and semisolid SLNTM dispersions for topical application: rheological characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58, pp. 561-567.
- Lowe, N. J., Shaath, M. A. & Pathak, M. A. (1990). Sunscreens development, evaluation, and regulatory aspects. *Marcel Dekker*, pp. 320-480.
- Lowe, N. J., Shaath, N. A. & Pathak, M. A. (1997). Sunscreens, New York: Cosmetic Science and Technology Series.
- Lukowski, G., Kasbohm, J., Pfliegel, P., Illing, A. & Wulff, H. (2000). Crystallographic investigation of cetylpalmitate solid lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 196, pp. 201-205.
- Maaben, S., Schwarz, C., Mehnert, W., Lucks, J. S., Yunis-Specht, F., Müller, B. W. & Müller, R. H. (1993). Comparison of cytotoxicity between polyester nanoparticles and solid lipid nanoparticles (SLN). *Proc. Int. Symp. Control. Release Bioact. Mater.*
- Mackenzie, J. D. (2003). Sol-Gel Research—Achievements Since 1981 and Prospects for the Future. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 26, pp. 23-27.
- Mader, K., Wissing, S. A. & Müller, R. H. (2001). Solid lipid nanoparticles (SLN)-a novel carrier for UV blockers. *Die Pharmazie*, 56, pp. 783-786.
- Madison, K. C. (2003). Barrier function of the skin: "la raison d'être" of the epidermis. *The Journal of Investigative Dermatology*, 121, pp. 231-241.
- Maier, T. & Korting, H. C. (2005). Sunscreens - which and what for? *Skin Pharmacology Physiology*, 18, pp. 253-262.

- Mandawgade, S. D. & Patravale, V. B. (2008). Development of SLNs from natural lipids: application to topical delivery of tretinoin. *International journal of pharmaceuticals*, 363, pp. 132-139.
- Mansur, J. S., Breder, M. N., Mansur, M. C. & Azulay, R. D. (1986). Determinação do fator de proteção por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 61, pp. 121-124.
- Martins, S., Tho, I., Souto, E., Ferreira, D. & Brandl, M. (2012). Multivariate design for the evaluation of lipid and surfactant composition effect for optimisation of lipid nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45, pp. 613-623.
- Matsumara, Y. & Ananthaswamy, H. N. (2004). Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 195, pp. 298-308.
- Maverakis, E., Miyamura, Y., Bowen, M. P., Correa, G., Ono, Y. & Goodarzi, H. (2010). Light, including ultraviolet. *Journal of Autoimmunity*, 34, pp. 247-257.
- Mcgarvey, D. J. (2007). Commercial sunscreens provide the basis of an industry-linked. *Royal Society of Chemistry*
- Mckinlay, A. F. & Diffey, B. L. (1987). A reference action spectrum for ultraviolet induced erythema in human skin. *Human Exposure to Ultraviolet Radiation: Risks and Regulations*, pp. 83-87.
- Medi, M. B. & Singh, J. (2003). Electronically facilitated transdermal delivery of human parathyroid hormone. *International Journal of Pharmaceutics*, 263, pp. 25-33.
- Mehnert, W. & Mader, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47, pp. 165-196.

- Menon, G. K. (2002). New insights into skin structure: Scratching the surface. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, pp. 3-17.
- Monteiro-Riviere, N. A. (2010). *Toxicology of the Skin*, New York: Informa Healthcare, USA.
- Moser, K. (2001). Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52, pp. 103-112.
- Müller-Goymann, C. C. (2004). Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58, pp. 343-356.
- Müller, R. H., Maaben, S., Weyhers, H., Specht, F. & Lucks, J. S. (1996). Cytotoxicity of magnetite loaded polylactide, polylactide/glycolide particles and solid lipid nanoparticles (SLN). *International Journal of Pharmaceutics*, 138, pp. 85-94.
- Müller, R. H., Maassen, S., Schwarz, C. & Mehnert, W. (1997). Solid lipid nanoparticles (SLN) as potential carrier for human use: interaction with human granulocytes. *Journal of Control Release*, 47, pp. 261-269.
- Müller, R. H., Mader, K. & Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, pp. 161-177.
- Müller, R. H., Petersen, R. D., Hommos, A. & Pardeike, J. (2007). Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, pp. 522-30.
- Müller, R. H., Radtke, M. & Wissing, S. A. (2002). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54 pp. 131-55.

- Nashev, L. G., Schuster, D., Laggner, C., Sodha, S., Langer, T., Wolber, G. & Odermatt, A. (2010). The UV-filter benzophenone-1 inhibits 17-hydroxysteroid dehydrogenase type 3: virtual screening as a strategy to identify potential endocrine disrupting chemicals. *Biochemical Pharmacology*, 79, pp. 1189-1199.
- Nemes, Z. & Steinert, P. M. (1999). Bricks and mortar of the epidermal barrier. *Experimental and Molecular Medicine*, 31, pp. 5-19.
- Nesseem, D. (2011). Formulation of sunscreens with enhancement sun protection factor response based on solid lipid nanoparticles. *International journal of cosmetic science*, 33, pp. 70-79.
- Nikolic, S., Keck, C. M., Anselmi, C. & Müller, R. H. (2011). Skin photoprotection improvement: Synergistic interaction between lipid nanoparticles and organic UV filters. *International Journal of Pharmaceutics*, 414, pp. 276- 284.
- Nishihama, S., Shio, S. & Kimura, A. Year. In: In Proceeding of the 3rd International Conference on Advanced Materials Process (ICAMP3), (2004) Melbourne, Australia.
- Nohynek, G. J. & Schaefer, H. (2001). Benefit and risk of organic ultraviolet filters. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 33, pp. 285-299.
- Obagi, Z. E. (2004). Restauração e rejuvenescimento da pele - Incluindo classificação básica dos tipos de pele, Rio de Janeiro, Revintor.
- Olbrich, C. & Müller, R. H. (1999). Enzymatic degradation of SLN-effect of surfactant and surfactant mixtures. *International Journal of Pharmaceutics*, 180, pp. 31-39.
- Palm, M. D. & O`Donoghue, M. N. (2007). Update on photoprotection. *Dermatology and Therapy*, 20, pp. 360-376.

- Papakostas, D., Rancan, F., Sterry, W., Blume-Peytavi, U. & Vogt, A. (2011). Nanoparticles in dermatology. *Archives of Dermatological Research*, 303, pp. 533-550.
- Pardeike, J., Hommoss, A. & Müller, R. H. (2009). Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *International Journal of Pharmaceutics*, 366, pp. 170-184.
- Pardeike, J., Schwabe, K. & Müller, R. H. (2010). Influence of nanostructured lipid carriers (NLC) on the physical properties of the Cutanova Nanorepair Q10 cream and the in vivo skin hydration effect. *International Journal of Pharmaceutics*, 396, pp. 166-173.
- Park, K. (2007). Nanotechnology: what it can do for drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 120, pp. 1-3.
- Patlolla, R. R., Desai, P. R., Belay, K. & Singh, M. S. (2010). Translocation of cell penetrating peptide engrafted nanoparticles across skin layers. *Biomaterials*, 31, pp. 5598-5607.
- Peltola, S., Saarinen-Savolainen, P., Kiesvaara, J., Suhonen, T. M. & Urtili, A. (2003). Microemulsions for dermal delivery of estradiol. *International Journal of Pharmaceutics*, 254, pp. 99-107.
- Pietkiewicz, J. & Sznitowska, M. (2004). The choice of lipids and surfactants for injectable extravenous microspheres. *Pharmazie*, 59, pp. 325-326.
- Podio, V., Zara, G. P., Carazzonet, M., Cavalli, R. & Gasco, M. R. (2000). Biodistribution of stealth and non-stealth solid lipid nanospheres after intravenous administration to rats. *Journal Pharmaceutics Pharmacology*, 52, pp. 1057-1063.

- Popov, A. P., Priezzhev, A. V., Lademann, J. & Myllylä, R. (2005). TiO₂ nanoparticles as an effective UV-B radiation skin-protective compound in sunscreens. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 38, pp. 2564–2570.
- Priano, L., Esposti, D., Esposti, R., Castagna, G., De Medici, C., Frascini, F., Gasco, M. R. & Mauro, A. (2007). Solid lipid nanoparticles incorporating melatonin as new model for sustained oral and transdermal delivery systems. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7, pp. 3596-3601.
- Proserpio, G. (1985). Radiazioni e loro azione sulla cute: Abbronzatura, Filtri UVB-UVA, Fattori di pigmentazione. In: SINERGA (ed.) *Chimica e tecnica cosmetica*. Pero-Milano.
- Prow, T. W., Grice, J. E., Lin, L. L., Faye, R., Butler, M., Becker, W., Wurm, E. M., Yoong, C., Robertson, T. A., Soyer, H. P. & Roberts, M. S. (2011). Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, pp. 470-491.
- Puglia, C., Blasi, P., Rizza, L., Schoubben, A., Bonina, F., Rossi, C. & Ricci, M. (2008). Lipid nanoparticles for prolonged topical delivery: an in vitro and in vivo investigation. *International Journal of Pharmaceutics*, 357, pp. 295-304.
- Puri, D., Bhandari, A., Sharma, P. & Choudhary, D. (2010). Lipid nanoparticles (SLN,NLC): A novel approach for cosmetic and dermal pharmaceutical. *Journal of Global Pharma Technology*, 5, pp. 1-15.
- Rabinow, B. E. (2004). Nanosuspensions in drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3, pp. 785-796.
- Rahman, I. A., Vejayakumaran, P., Sipaut, C. S., Ismail, J., Abu, B. M. & Adnan, R. (2004). An optimized sol-gel synthesis of stable primary equivalent silica particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Engineering Aspects* 294, pp. 102-110.

- Roberts, M. S. & Walters, K. A. (eds.) 2008. *Dermal Absorption and Toxicity Assessment*, New York: Informa Healthcare.
- Roop, D. (1995). Defects in the barrier. *Science*, 267, pp. 474-475.
- Rottman, C., Gans, O., Biagini, F. & Lapidot, N. (2000). Advanced Sunscreens: UV Absorbers Entrapped in Sol-Gel Glass Microcapsules. *Sol-Gel Technologies Ltd.*, pp. 1-3.
- Sadrieh, N., Wokovich, A. M., Gopee, N. V., Zheng, J., Haines, D., Parmiter, D., Siitonen, P. H., Cozart, R. C., Patri, A. K., Mcneil, S. E., Howard, P. C., Doub, W. H. & Buhse, L. F. (2010). Lack of Significant Dermal Penetration of Titanium Dioxide from Sunscreen Formulations Containing Nano- and Submicron-Size TiO₂ Particles. *Toxicological Sciences*, 115, pp. 156-166.
- Santander-Ortega, M. J., Jodar-Reyes, A. B., Csaba, N., Bastos-Gonzalez, D. & Ortega-Vinuesa, J. L. (2006). Colloidal stability of pluronic F68-coated PLGA nanoparticles: a variety of stabilisation mechanisms. *Journal of Colloid Interface Science*, 302, pp. 522-529.
- Santoro, M. I., Oliveira, D. A., Kedor-Hackmann, E. R. & Singh, A. K. (2005). The effect of packaging materials on the stability of sunscreen emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 297, pp. 197-203.
- Santos, C., Mehnert, W., Schaller, M., Korting, H. C., Gysler, A., Haberland, A. & Schafer-Korting, M. (2002). Drug targeting by solid lipid nanoparticles for dermal use. *Journal of Drug Targeting*, 10, pp. 489-495.
- Sato, S., Murakata, T., Suzuki, T. & Ohgawara, T. (1990). Control of pore size distribution of silica gel through sol-gel process using water soluble polymers as additives. *Journal of Materials Science*, 254, pp. 4880-4885.

- Scharffetter-Kochanek, K., Wlaschek, M. & Brenneisen, P. (1997). UV induced reactive oxygen species in photocarcinogenesis and photoaging. *Journal of Biological Chemistry*, 378, pp. 1247-1257.
- Sharma, K. P., Aswal, V. K., Kumaraswamy, G. (2010). Adsorption of non-ionic surfactant on silica nanoparticles: Structure and resultant interparticle interactions. *Journal of Physical Chemistry B*, 114, pp. 10986-10994.
- Schlumpf, M., Jarry, H., Wuttke, W., Ma, R. & Lichtensteiger, W. (2004). Estrogenic activity and estrogen receptor [beta] binding of the UV filter 3-benzylidene camphor: comparison with 4-methylbenzylidene camphor. *Toxicology*, 199, pp. 109-120.
- Schubert, M. A. & Müller-Goymann, C. C. (2003). Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles-evaluation of the method and process parameters. *European journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 55, pp. 125-131.
- Schueller, R. & Romanowski, P. (2000). Introdução ao produtos fotoprotectores. *Cosmetics and Toiletries Ed. Portuguesa*, 12, pp.60-67.
- Seeley, R. R., Stephens, T. D. & Tate, P. (2003). Sistema tegumentar. In: LANGE, M. J. (ed.) *Anatomy & Physiology* 6^o ed.: Martin J. Lange
- Sekkat, N., Kalia, Y. & Guy, R. H. (2002). Biophysical study of porcine ear skin in vitro and its comparison to human skin in vivo. *International Journal of Pharmaceutics*, 9, pp. 2376-2381.
- Setlow, R. B. (1974). The wavelengths in sunlight effective in producing skin cancer: a theoretical analysis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 71 pp. 3363-3366.

- Shegokar, R., Singh, K. K. & Müller, R. H. (2011). Production & stability of stavudine solid lipid nanoparticles—From lab to industrial scale. *International Journal of Pharmaceutics*, 416, pp. 461- 470.
- Sheu, M. T., Lin, C. W., Huang, M. C., Shen, C. H. & Ho, H. (2003). Correlation of in vivo and in vitro measurements of sun protection factor. *Journal of Food and Drug Analysis*, 11, pp. 128-32.
- Shi, L., Shan, J., Ju, Y., Aikens, P. & Prud'Homme, R. K. (2012). Nanoparticles as delivery vehicles for sunscreen agents. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, pp. 1-8.
- Siddiquey, I. A., Furusawa, T., Sato, M., Honda, K. & Suzuki, N. (2008). Control of the photocatalytic activity of TiO₂ nanoparticles by silica coating with polydiethoxysiloxane. *Dyes and Pigments*, 76, pp. 754-759.
- Silva, C. S. & Airoidi, C. (1997). Acid and Base Catalysts in the Hybrid Silica Sol-Gel Process. *Journal of Colloidal and Interface Science*, 195, pp. 381-387.
- Sjöström, B. & Bergenstahl, B. (1992). Preparation of submicron drug particles in lecithinstabilized o/w emulsions. I. Model studies of the precipitation of cholesteryl acetate. *International Journal of Pharmaceutics*, 88, pp. 53-62.
- Souto, E. B. & Müller, R. H. (2008). Cosmetic features and applications of lipid nanoparticles (SLN, NLC). *International Journal of Cosmetic Science*, 30, pp. 157-165.
- Souto, E. B., Anselmi, M. C., Müller, R. H. Preparation and characterization of n-dodecyl-ferulate-loaded solid lipid nanoparticles (SLN®). 2005. *International Journal of Pharmaceutics*, 295, pp. 261-268.
- Souto, E. B., Wissing, S. A., Barbosa, C. M. & Müller, R. H. (2004). Evaluation of the physical stability of SLN and NLC before and after incorporation into hydrogel

formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58, pp. 83-90.

Steiner, D. (1995). *Cosmetics and Toiletries*.

Streilein, J. W., Taylor, J. R., Vincek, V., Kurimoto, I., Shimizu, T., Tié, C. & Coulomb, C. (1994). Immune surveillance and sunlight-induced skin cancer. *Immunology Today*, 15, pp.174-179.

Teeranachaideekul, V., Souto, E. B., Junyaprasert, V. B. & Müller, R. H. (2007). Cetyl palmitate-based NLC for topical delivery of Coenzyme Q(10) - development, physicochemical characterization and in vitro release studies. *European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67, pp. 141-148.

The Merck Index. (2001). 3^a ed, Merck Co. Inc., USA, pp. 1213.

Tregear, R. T. (1966). The permeability of mammalian skin to ions. *Journal Investigative Dermatology*, 46, pp. 16-23.

Trenti, R. (2007). Prodotti funzionali: Fotostabilità dei filtri solari. In: NUOVE, T. (ed.) *Manuale del cosmetologo*. Milano.

Trotta, M., Debernardi, F. & Caputo, O. (2003). Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 257, pp. 153-160.

Tsuji, N., Moriwaki, S., Suzuki, Y., Takema, Y. & Imokawa, G. (2001). The Role of Elastases Secreted by Fibroblasts in Wrinkle Formation: Implication Through Selective Inhibition of Elastase Activity. *Photochemistry and Photobiology*, 74, pp. 283-290.

- Ullrich, S. E. (2005). Mechanisms underlying UV-induced immune suppression. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 571, pp. 185-205.
- Ullrich, S. E. & Schmitt, D. A. (2000). The role of cytokines in UV-induced systemic immune suppression. *Journal of Dermatological Science*, 23, pp. 10-12.
- Üner, M. (2006). Preparation, characterization and physico-chemical properties of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): their benefits as colloidal drug carrier systems. *Pharmazie*, 61, pp. 375-386.
- Valenta, C. & Schultz, K. (2004). Influence of carrageenan on rheology skin permeation of microemulsion formulations. *Journal of Controlled Release*, 95, pp. 257-265.
- Villalobos-Hernández, J. R. & Müller-Goymann, C. C. (2006). 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*, 322, pp. 161-170.
- Walterscheid, J. P., Nghiem, D. X. & Ullrich, S. E. (2002). Determining the role of cytokines in UV-induced immunomodulation. *Methods*, 28, pp. 71-78.
- Wamer, W. G., Yin, J. J. & Wei, R. R. (1997). Oxidative damage to nucleic acids photosensitized by titanium dioxide. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 23, pp. 851-858.
- Wang, J. J., Liu, K. S., Sung, K. C., Tsai, C. Y. & Fang, J. Y. (2009). Lipid nanoparticles with different oil/fatty ester ratios as carriers of buprenorphine and its prodrugs for injection. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38, pp. 138-146.

- Wang, S. Q., Balagula, Y. & Osterwalder, U. (2010). Photoprotection: a review of the current and future technologies. *Dermatologic Therapy*, 23, pp. 31-47.
- Wang, W., Gu, B., Liang, L. & Hamilton, W. (2003). Fabrication of two- and three-dimensional silica nanocolloidal particle arrays. *Journal of Physical Chemistry B*, 107, pp. 3400-3404.
- Weiss, B. (2007). Can endocrine disruptors influence neuroplasticity in the aging brain? *Neurotoxicology*, 28, pp. 938-950.
- Westesen, K., Siekmann, B. & Koch, M. H. (1993). Investigations on the physical state of lipid nanoparticles by synchrotron radiation X-ray diffraction. *International Journal of Pharmaceutics*, 93, pp. 189-199.
- Wiesendanger, R. & Guntherodt, H. J. (1992). *Scanning tunneling microscopy II*, New York, Springer Verlag.
- Wissing, S. A., Kayser, O. & Müller, R. H. (2004). Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 56, pp. 1257-1272.
- Wissing, S. A. & Müller, R. H. (2001a). The development of an improved carrier system for sunscreen formulations based on crystalline lipid nanoparticles. *Proceedings of the 13th International Symposium on Microencapsulation*.
- Wissing, S. A. & Müller, R. H. (2001b). A novel sunscreen system based on tocopherol acetate incorporated into solid lipid nanoparticles. *International Journal of Cosmetic Science*, 23, pp. 233-43.
- Wissing, S. A. & Müller, R. H. (2001c). Solid lipid nanoparticles (SLN)--a novel carrier for UV blockers. *Die Pharmazie*, 56, pp. 783-786.

- Wissing, S. A. & Muller, R. H. (2002). Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration. *Journal Controlled Release*, 81, pp. 225-233.
- Wissing, S. A. & Muller, R. H. (2003a). Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN). *International Journal of Pharmaceutics*, 254, pp. 65-68.
- Wissing, S. A. & Muller, R. H. (2003b). The influence of solid lipid nanoparticles on skin hydration and viscoelasticity-in vivo study. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik*, 56, pp. 67-72.
- Wissing, S. A. & Müller, R. H. (2001). The development of an improved carrier system for sunscreen formulation based on crystalline lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 242, pp. 373-375.
- Wissing, S. A. & Müller, R. H. (2002a). The development of an improved carrier system for sunscreen formulation based on crystalline lipid nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 242, pp. 373-375.
- Wissing, S. A. & Müller, R. H. (2002b). In vitro and in vivo skin permeation of sunscreens from solid lipid nanoparticles (SLNTM), supercooled melts and emulsions. *Proceedings of 4th World Meeting APGI/APV*. Florence.
- Wissing, S. A. & Müller, R. H. (2002c). Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration. *Journal of Controlled Release*, 81, pp. 225-233.
- Wolf, E. (1999). Angst vor der Sonne. *Pharmazeutische Zeitung*, 144, pp. 1839-1843.
- Wu, L., Zhang, J. & Watanabe, W. (2011). Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, pp. 456-469

- Yener, G., Incegul, T. & Yener, N. (2003). Importance of using solid lipid microsphere as carriers for UV filters on the example octyl methoxy cinnamate. *International Journal of Pharmaceutics*, 258, pp. 203-207.
- Zur Mühlen, A., Schwarz, C. & Mehnert, W. (1998). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - drug release and release mechanism. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45, pp. 149-155.