

PREPARAÇÃO COSMÉTICA COM AÇÃO ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA COM ATIVOS NANOENCAPSULADOS

**Hugo Rodrigues da Silva¹, Ana Vitória Ximenes de Oliveira Costa², Débora Ripardo
Gomes Rodrigues², Laís Oliveira Tavares², Miriam Gabrielle Guimarães Gonçalves²,
Marcia Bay³**

¹Discente de graduação em Engenharia Química. Bolsista de Iniciação Tecnológica do CNPq/IFRO; ²Discente do curso técnico integrado em química - IFRO; ³Professora do Curso Técnico em Química- IFRO. E-mail autor correspondente: ughosilva00@gmail.com

Área de conhecimento/Subárea: Área 04 - Ciências da Saúde | Subárea: Saúde Coletiva.
ODS vinculado(s): ODS03, ODS08, ODS12

INTRODUÇÃO

A pele é o órgão mais externo, logo, é a interface entre o corpo e o meio ambiente, estando assim em constante exposição à radiação ultravioleta (UV). Diversos fatores devem ser considerados quando se avaliam os efeitos da radiação UV na pele, tais como o comprimento de onda incidente, a dose e características cutâneas como a susceptibilidade genética individual. As primeiras alterações causadas pela exposição solar na pele são a inflamação, caracterizada por eritema, edema e calor. Espécies reativas oxigênio (ERO) são as principais responsáveis por esta inflamação, pois promovem ativação de diversos receptores de membrana para mediadores pró-inflamatórios, promovendo o fotoenvelhecimento da pele e o câncer de pele. (Guaratini *et al.*, 2009).

Umas das alternativas consideradas terapêuticas e profiláticas para a redução dos danos da radiação UV é o uso de antioxidantes, substâncias que em concentrações baixas, retarda ou previne de maneira significativa a oxidação de um substrato. Estes podem ser de origem sintética ou natural. Entretanto, o uso destas terapias podem ser bastantes diversas. Os fotoprotetores, por sua vez, atuam de maneira preventiva no tecido cutâneo. Estes podem ser classificados como “químicos”, ou seja, moléculas fotoestáveis e que possuem grupos cromóforos que absorvem a radiação ou “físicos”, atuando como uma barreira mecânica e impedindo assim a penetração da radiação na pele.

Outra problemática no uso de ativos naturais é a instabilidade química causada por intempéries do ambiente sendo responsáveis pela rápida degradação e evaporação dos princípios ativos. Uma forma de evitar essa instabilidade é o nanoencapsulamento dos ativos. A encapsulação é considerada o processo de envolvimento de um sólido, líquido ou gás em uma membrana inerte, normalmente de material polimérico. Essa técnica é utilizada com o intuito de proteção, controle de liberação e compatibilidade do produto envolvido, sendo que a membrana inerte é responsável por isolar e proteger o princípio ativo do ambiente externo (Antonioli, 2019). Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo a preparação de formulação cosmética utilizando produtos naturais da região amazônica que possuem ação fotoprotetora e antioxidante com a aplicação de nanotecnologia visando o controle e a liberação dos ativos visando maior tempo de eficácia da formulação.

MATERIAL E MÉTODOS

Ativos Utilizados

Os ativos utilizados para a elaboração da formulação não serão descritos, considerando que estamos na fase de investigação e, se bem-sucedida, este poderá ser registrado. Para este estudo as amostras serão nominadas como OE (óleo essencial) e EB (extrato bruto).

Elaboração das Nanocápsulas

Para a elaboração das nanocápsulas utilizou-se o método de disposição de polímero pré-formado, adaptado de Antonioli (2019). Para o preparo da fase orgânica foi dissolvido 100 mg de policaprolactona (PCL) e 77 mg de monoestearato de sorbitano em 27 mL de acetona a 40 °C e mantidos sob agitação por uma hora. Em seguida, a temperatura foi reduzida, entre 30 e 35 °C, e 100 µL dos ativos de interesse foram adicionados (OE e EB), mantendo a mistura resultante sob agitação por mais dez minutos. A fase orgânica foi vertida em uma fase aquosa, que havia sido previamente agitada por uma hora à temperatura ambiente, contendo 77 mg de polisorbato 80 diluído em 53 mL de água deionizada. Após isso, a mistura foi mantida em agitação por mais dez minutos, a acetona foi evaporada e o volume da suspensão formada foi ajustado para 10 mL em um rota-evaporador.

Incorporação no Veículo Creme

O veículo utilizado é composto por Cetearyl Olivatate/ Sorbitan Olivatate/Ethylhexyl Olivatate/Benzoic Acid/Sorbic Acid/ Dehydroacetic Acid/Caprylyl Glycol/Benzyl Alcohol/Butylated Hydroxytoluene/Glycerin/Water. A suspensão de nanocápsulas com ativos (10%), foi inserida no veículo. A incorporação das nanocápsulas no veículo creme se deu por homogeneização simples. Foram realizados ensaios preliminares de estabilidade durante 60 dias. Aspectos físicos e pH também foram avaliados nos dias 7, 15 e 30.

Tamanho e Potencial Zeta das Nanocápsulas Presentes nas Formulações

A determinação do tamanho e do potencial zeta da formulação, foi realizada utilizando o equipamento ZetaSizer (modelo ZS da linha ZetaSizer Nano).

Atividade do Potencial Antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante do Extrato Bruto, do Óleo essencial e da formulação com os ativos utilizou-se o método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) adaptado de Pires *et al.* (2017). Os ensaios foram realizados em duas triplicatas, nas concentrações de 400, 200, 100, 50, 25 e 12,5 µg.

Potencial de Irritação

Para avaliar o potencial de irritação da formulação utilizou-se o método alternativo ao uso de animais HET-CAM, adaptado de Luepke (1985) e Iccvam (2010). Os ovos utilizados no experimento foram cedidos por um produtor rural da região. Os ovos fecundados, foram colocados em uma chocadeira (marca CHOCAMAIS) com rolagem de ovos, controle de temperatura e umidade automáticas, por um período de 72h à 37 °C e umidade relativa (UR) de aproximadamente 50-65%, a fim de possibilitar a formação da membrana cório-alantoide. Como controle positivo foi utilizado NaOH 0,1 mol/L (Hidróxido de sódio), e controle negativo solução de NaCl 0,9% p/v (Cloreto de sódio).

Os ensaios foram realizados em triplicata. Foram avaliadas a formulação com nanocápsulas contendo OE e EB e a formulação sem os ativos. O ensaio foi registrado em vídeos a fim de analisar os efeitos das amostras e dos controles nos vasos sanguíneos.

Determinação do Fator de Proteção Solar

Para a avaliação do Fator de Proteção Solar dos ativos presentes na formulação, utilizou-se a metodologia *in vitro* proposta por Mansur (1986). A solução etanólica do OE e EB foram diluídas nas concentrações de 100, 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,125 µg. As amostras foram analisadas em uma espectrofotômetro da marca (Bel UV-M51), nas faixas de 290 nm a 320 nm com intervalo de 5 nm. Para o cálculo do FPS os valores de absorbância são multiplicados por seus respectivos valores ponderais (SAYRE *et al.*, 1979). O valor do somatório final é multiplicado por 10.

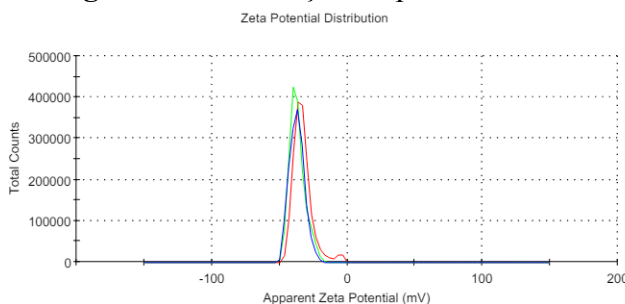
Perfil de Permeação e Retenção Cutânea *ex vivo* da Formulação

Para determinar o perfil de permeação cutânea *ex vivo* utilizou-se um sistema de permeação composto por 4 células de difusão vertical de Franz, acopladas em agitadores magnéticos. O ensaio foi realizado em triplicata junto ao branco utilizando como membrana natural pele da orelha do porco (*Sus scrofa domesticus*). A formulação foi pesada e colocada sobre a pele suína no compartimento doador (1,77 cm²). A cada 1 hora, uma alíquota de 2mL era retirada das células e levadas para leitura no espectrofotômetro. O teste teve duração de 10 horas. Após a finalização do teste, as peles foram armazenadas para a posterior realização do ensaio de retenção cutânea *ex vivo*. Para determinar a quantidade de substâncias retidas nas membranas naturais, após 10 horas a pele exposta a formulação durante o ensaio de permeação cutânea a foi recortada e em um tubo de ensaio, foi imersa em 10 mL de Etanol, após isso agitou-se a mistura em vortex por 2 minutos e posta para a sonicação por 30 minutos em banho maria. A mistura passou por um processo de filtração, em seguida a mistura foi levada para leitura no espectrofotômetro. O teste foi realizado em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do potencial zeta (Figura 1) indicou um potencial de -32,9 mV. Segundo Patel e Agrawal (2011) uma suspensão com ± 30 mV possui estabilidade eletrostática.

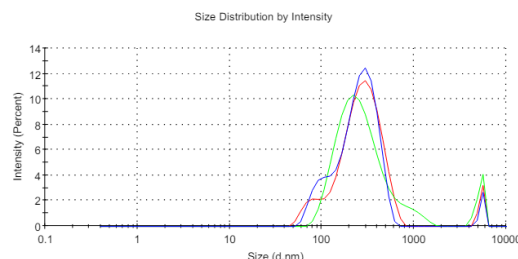
Figura 1: Distribuição do potencial zeta



Fonte: Dos autores, 2024

A análise do diâmetro hidrodinâmico (Figura 2) indicou um índice de polidispersividade(PDI) de 0,479. Para Bhattacharjee (2016) PDI > 0,4 indica a existência de um sistema polidisperso, ou seja, as partículas apresentam formas ou tamanhos diferentes. A leitura apontou 3 picos de leituras, apresentando 293,4, 75,20, 5375 d.nm com, respectivamente 88,3, 7,6 e 4,3 de intensidade (%). A detecção de diferentes picos na leitura indica a polidispersividade do sistema.

Figura 2: Distribuição do diâmetro hidrodinâmico



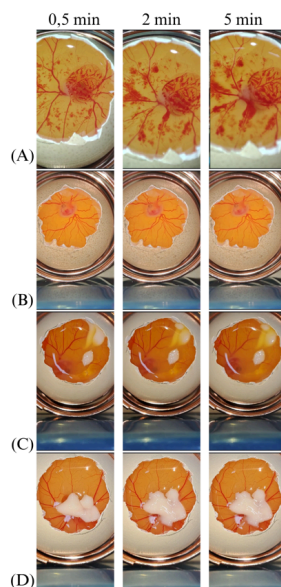
Fonte: Dos Autores, 2024

Após 60 dias da elaboração da formulação com nanocápsulas contendo os ativos em não se observou mudanças visuais na formulação bem como não houve a formação de grumos ou separação de fases. Quanto à coloração, odor e pH não foram detectadas alterações perceptíveis ao sistema sensorial.

No ensaio de atividade antioxidante, a formulação com os ativos apresentou, na maior concentração testada ($400\mu\text{g. mL}^{-1}$), 95,18% de redução do radical DPPH. Com um CE_{50} de 30,56 e índice de atividade antioxidante (IAA) de 1,05, a formulação possui atividade antioxidante moderada. Segundo Scherer e Godoy (2009) para atividade antioxidante moderada o valor de IAA deve estar entre 0,5 e 1.

As análises do ensaio de irritabilidade não indicaram efeito irritante (Hiperemia, hemorragia e coagulação) após 5 minutos após a aplicação da formulação com nanocápsulas com e sem ativos (Figura 3C, D).

Figura 3: Efeitos observados na membrana cório-alantoide.



Onde: (A) NaOH 1M

(B) NaCl 0,9%

(C) Nanocápsulas sem O.E. e E. B.

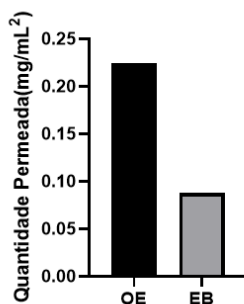
(D) Nanocápsulas com O.E. e E. B.

Fonte: Dos autores, 2023

O ensaio de determinação de FPS *in vitro* indicou que o fator de proteção solar da formulação NFC é de 18. Segundo a ANVISA (2022), um produto com FPS de 18 é classificado como um produto com proteção solar média.

Observou-se através do ensaio de permeação cutânea *ex vivo* que o perfil de permeação do OE e do EB presente nas nanocápsulas é lento, ambos apresentaram perfis de permeação parecidos. Foi permeado um total de 9,04 % do óleo presente nas nanocápsulas, enquanto que o EB permeou 30,99%, ao final das 12h de experimento (Figura 4).

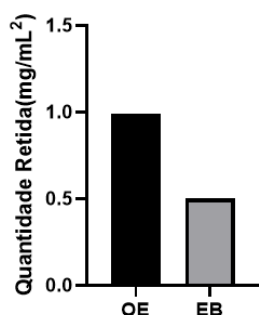
Figura 4: Perfil de permeação cutânea *ex vivo* da formulação NFC



Fonte: Dos Autores, 2024

Verificou-se, com o ensaio de retenção cutânea, uma quantidade remanescente nas membranas de cerca 5% do OE e 25% do EB da quantidade presente nas nanocápsulas (Figura 05).

Figura 5: Perfil de retenção cutânea *ex vivo* da formulação NFC



Fonte: Dos Autores, 2024

Inferese-se, a partir dos ensaios de permeação e retenção cutânea *ex vivo*, que as nanocápsulas poliméricas produzidas promoveram um perfil de permeação lento do OE e do EB.

CONCLUSÕES

O presente estudo buscou investigar uma formulação de aplicação tópica com ativos nanoencapsulados para o uso como fotoprotetora e antioxidante. A avaliação da atividade antioxidante (IAA) e FPS (ANVISA) mostraram valores adequados segundo os parâmetros analisados, além disso os ensaios preliminares de estabilidade indicaram que as condições da formulação após 60 dias à temperatura ambiente foram mantidas.

Constatou-se, através dos ensaios preliminares de permeação e retenção cutânea *ex vivo* que o nanoencapsulamento dos ativos, promoveram liberação controlada do OE e do EB. No entanto, são necessários mais estudos para avaliar outras propriedades buscando o aprimoramento do produto que está em desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS

EDITAL Nº 13/2023/REIT - PROPESP/IFRO - NOVOS PROJETOS IT. Edital de Pesquisa. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia - IFRO, câmpus Porto Velho Calama.

REFERÊNCIAS

ANTONIOLI, G. **Desenvolvimento de nanocápsulas de poli(ácido láctico) contendo óleo essencial de capim-limão e avaliação contra fungos fitopatogênicos**. 2019. 82 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, Caixias do Sul, 2019.

Ministério da Saúde (MS); Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 629, de 10 de março de 2022. Dispõe sobre protetores solares e produtos multifuncionais em cosméticos e internaliza a Resolução GMC MERCOSUL nº 08/2011. Publicada no Diário Oficial da União, nº 51, de 16 de março de 2022.

BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, ago. 2016.

GUARATINI, T. *et al.* Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 717–721, 2009.

ICCVAM. 2010. ICCVAM Test Method Evaluation Report: Current Validation Status of In Vitro Test Methods Proposed for Identifying Eye Injury Hazard Potential of Chemicals and Products. NIH Publication No. 10-7553. Research Triangle Park, NC: National Institute of Environmental Health Sciences. Disponível em: https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/docs/ocutox_docs/invitro-2010/tmer-vol2.pdf. Acesso em 10 abril de 2024.

LUEPKE, N. P. Hen's egg chorioallantoic membrane test for irritation potential. **Food and Chemical Toxicology**, v. 23, n. 2, p. 287–291, 1 fev. 1985.

MANSUR, J. de S. *et al.* Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 61, n. 3, p. 2-7. 1986.

PIRES, J, TORRES, P. *et al.* Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre (DPPH) para extratos de algas. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, São Paulo, p. 1-6, 2017.

SAYRE, R. M. *et al.* A COMPARISON OF IN VIVO AND IN VITRO TESTING OF SUNSCREENING FORMULAS. **Photochemistry and Photobiology**, v. 29, n. 3, p. 559–566, mar. 1979.

SCHERER, R; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 525-766, 2009.

PATEL, V.; AGRAWAL, Y. Nanosuspension: An approach to enhance solubility of drugs. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 2, p. 81, 2011.