

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Farmácia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

Estudos de fotoestabilidade de fármacos e ativos cosméticos nano e microencapsulados

Lisiane Nichele Pereira

Porto Alegre, dezembro de 2010.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Farmácia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

Estudos de fotoestabilidade de fármacos e ativos cosméticos nano e microencapsulados

Lisiane Nichele Pereira
Trabalho de Conclusão da Disciplina de Estágio Curricular em Farmácia

Prof. Dr. Ruy Carlos Ruver Beck
Orientador
Msc. Márcia Camponogara Fontana
Co-orientadora

Porto Alegre, dezembro de 2010.

SUMÁRIO

RESUMO.....	4
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVO.....	6
3. METODOLOGIA.....	6
4. MATERIAIS NANOESTRUTURADOS.....	7
4.1 LIPOSSOMAS E NIOSSOMAS.....	7
4.2 NANOPARTÍCULAS DE LIPÍDEO SÓLIDO.....	17
4.3 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS.....	22
5. MATERIAIS MICROESTRUTURADOS.....	32
6. CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo apresentar um levantamento bibliométrico dos estudos de proteção de fármacos e ativos cosméticos nano e microencapsulados quando expostos à radiação luminosa, discutindo-se as questões relativas à constituição das partículas, o tipo de radiação empregada e a cinética de fotodegradação. Para a elaboração do trabalho foram consultados artigos e monografias disponíveis em bases de dados. Os estudos de fotoestabilidade foram agrupados por tipo e constituição de partícula. As técnicas descritas neste trabalho apresentam potencial para se obter um aumento da fotoestabilidade de fármacos e ativos fotolábeis. Entretanto, em alguns tipos de partícula essa propriedade não foi observada devido aos componentes da formulação.

Palavras-chave: Fotoestabilidade. Nanopartículas. Micropartículas. Fotodegradação. Luz.

1. INTRODUÇÃO

A fotoestabilidade de fármacos representa um tópico emergente no campo da pesquisa farmacêutica, pois o número de fármacos que demonstram ser sensíveis à luz é crescente (Ragno *et al.*, 2003), assim como a publicação de artigos científicos que abordam diferentes aspectos de tais estudos (Perugini *et al.*, 2002; Albertini *et al.*, 2009; Ourique *et al.*, 2008; Fontana *et al.*, 2009). Estudos de fotoestabilidade para novos fármacos estão incluídos como parte integrante dos testes sob condições de estresse no ICH Guideline (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) (ICH, 1996) sendo, portanto, uma atividade essencial na indústria farmacêutica. Processos de formulação e produção parecem ser de importância decisiva para a fotoestabilidade de fármacos (Ioele *et al.*, 2005).

A exposição de fármacos e ativos cosméticos a luz visível e UV é inevitável, principalmente após aplicação tópica do produto. Assim, a fotodegradação destes compostos fotossensíveis é muito provável (Tursilli *et al.*, 2006; Shah *et al.*, 2007; Paese *et al.*, 2009). Além disso, a baixa fotoestabilidade pode tornar ineficaz a aplicação tópica de muitas destas substâncias (Shah *et al.*, 2007). Para contornar essas limitações, tem sido estudado o uso de partículas carreadoras no desenvolvimento de medicamentos com o intuito de proteger as substâncias das radiações UV (Ragno *et al.*, 2003; Raffin *et al.*, 2008; Fontana *et al.*, 2010).

Carreadores coloidais de fármacos, tais como, nanocápsulas (Ourique *et al.*, 2008; Weiss-Angeli *et al.*, 2008), nanoesferas, nanoemulsões (Fontana *et al.*, 2009) e nanopartículas lipídicas sólidas (Shah *et al.*, 2007) tem recebido um interesse crescente nos últimos anos como alternativas para a proteção de fármacos fotolábeis frente a degradação pela radiação visível ou ultravioleta. Além disso, a incorporação destas substâncias em nanomateriais pode modificar outras características, tais como, a biodistribuição de fármacos através da pele (Alves *et al.*, 2007; Guterres *et al.*, 2007), aumento na biodisponibilidade, proteção do fármaco frente à inativação e degradação no meio gastrointestinal (Schaffazick *et al.*, 2003; Beck *et al.*, 2005) e o desenvolvimento de sistemas de liberação modificada (Pohlmann *et al.*, 2002; Fontana *et al.*, 2009).

Estruturas vesiculares como lipossomas e niossomas também tem sido propostas como sistemas capazes de melhorar a estabilidade de fármacos fotossensíveis, embora resultados contraditórios tenham sido relatados (Manconi *et al.*, 2003). Além dos sistemas coloidais nanométricos, a microencapsulação (microesferas e microcápsulas) também tem atraído a

atenção de cientistas como potencial estratégia para proteção de substâncias fotossensíveis (Ragno *et al.*, 2003; Raffin *et al.*, 2008).

2. OBJETIVO

Considerando os aspectos acima relatados sobre a fotoestabilidade, o objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento bibliométrico dos estudos de proteção de fármacos e ativos cosméticos frente à radiação luminosa, quando nano ou microencapsulados, discutindo-se as questões relativas à constituição das partículas, o tipo de radiação empregada e a cinética de fotodegradação do fármaco.

3. METODOLOGIA

Foram realizadas pesquisas nos bancos de dados Web of Science, Scopus e Pubmed utilizando as seguintes palavras-chave: “nano* and drug and photostability”, “microparticles and photostability”, “nanoparticles and photostability”, “nano* and photostability”, “liposome and photostability” e “niosome and photostability”. As buscas nos bancos de dados foram realizadas no período entre junho à setembro de 2010. Os artigos presentes nos bancos de dados, cuja forma completa não estava disponível foram solicitados para os autores. A organização dos dados encontrados foi realizada de acordo com os tipos de material (nano ou microestruturados).

4. MATERIAIS NANOESTRUTURADOS

4.1 LIPOSSOMAS E NIOSSOMAS

Lipossomas são vesículas formadas pela auto-organização de fosfolipídeos em água, sendo que sua membrana pode ter uma ou várias bicamadas lipídicas curvadas sobre si. Nestas vesículas, o fármaco pode ficar em diferentes localizações, como na camada lipídica ou em sua região hidrofílica (Figura 1), dependendo da polaridade da substância encapsulada (Mertins *et al.*, 2005). Por outro lado, os niossomas são vesículas formadas por tensoativos não-iônicos, que foram desenvolvidos com o objetivo de aumentar a estabilidade físico-química das vesículas formadas apenas de fosfolipídeos (Attia *et al.*, 2007).

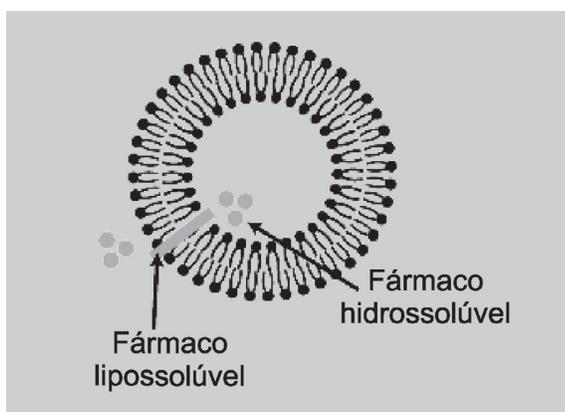


Figura 1. Esquema ilustrativo do corte transversal de lipossoma (Fonte: Pimentel *et al.*, 2007).

A influência dos lipossomas na fotoestabilidade da riboflavina (vitamina B2) foi avaliada sob luz fluorescente em diversas condições por Habib & Asker, 1991. Foi verificado que a fotoestabilidade da riboflavina aumentou quando incorporada em lipossomas neutros e carregados negativamente, mas sua fotoestabilidade diminuiu quando incorporada em lipossomas com carga positiva. Além disso, o aumento na concentração de dimiristoil fosfatidilcolina na composição dos lipossomas resultou em uma melhor fotoestabilidade da riboflavina, sendo que o pH do meio também influenciou em sua fotoestabilidade. A fotodegradação da riboflavina livre e incorporada nos lipossomas seguiu uma cinética de primeira ordem.

Estudos de fotodegradação da tretinoína em solução (metanol) e em niossomas expostos a luz UV e a condições artificiais de iluminação foram realizados por Manconi e colaboradores, em 2003. Neste estudo, foi avaliado o efeito da nanoencapsulação da tretinoína em bicamadas vesiculares sobre a sua fotoestabilidade. A influência da estrutura vesicular e da composição da bicamada sobre a fotoestabilidade da tretinoína foi discutida. As formulações de niossomas contendo tretinoína foram preparadas com polioxietileno lauril éter (Brij 30[®]), monopalmitato de sorbitano e monoestearato de sorbitano e uma mistura comercial de octil/decil poliglicosídeos (Triton CG110[®]) na presença de colesterol e dicetilfosfato. Os lipossomas multilamelares foram preparados pelo método de hidratação de filme, descrito por Manconi e colaboradores (2002), enquanto que os lipossomas unilamelares grandes e pequenos foram preparados pelas técnicas de extrusão e sonicação a partir das vesículas multilamelares. Fosfatidilcolinas hidrogenadas - Phospholipon 90H[®] (P90H) - e não-hidrogenadas - Phospholipon 90[®] (P90) foram empregadas nessa preparação. O estudo de fotoestabilidade foi realizado em condições forçadas de degradação frente a luz UV (366 nm) e sob a exposição direta de luz fluorescente, como um teste confirmatório. Como controle, a fotodegradação do fármaco livre em solução (metanol) também foi estudada.

A solução metanólica de tretinoína e a suspensão vesicular (2 mL em um frasco de vidro) foram mantidas à temperatura ambiente e expostas à radiação UV durante 1 hora, a uma distância fixa de 10 cm. Em intervalos pré-determinados (a cada 10 minutos), as amostras foram inicialmente agitadas e em seguida 100 µL da dispersão foram retirados e diluídos com metanol a fim de quantificar o fármaco. Os experimentos foram realizados em amostras com diferentes concentrações iniciais de tretinoína (0,4 e 0,2 mg/mL). Para as formulações com a concentração inicial de tretinoína de 0,2 mg/mL, os experimentos de fotólise também foram realizados com exposição a radiação durante 8 horas, sendo as amostras coletadas a cada 30 minutos. Para a determinação da meia-vida da tretinoína, foram realizados experimentos nos quais a concentração de tretinoína foi analisada a cada 5 minutos, até que a concentração restante de tretinoína atingisse cerca de 50 % da concentração inicial. Todos os experimentos foram realizados à temperatura de 25 ± 1 °C.

Além disso, testes confirmatórios foram realizados mantendo as amostras (2 mL em frasco de vidro) à temperatura ambiente e sob irradiação de luz fluorescente por 21 dias. Seis lâmpadas fluorescentes de 58 W foram utilizadas e a intensidade total da fonte de luz foi de 460 lx. Em intervalos de tempo (a cada 24 horas), as amostras foram agitadas e então 100 µL das dispersões foram coletados e diluídos com metanol para quantificar a tretinoína por cromatografia líquida.

A fotodegradação da tretinoína em metanol foi muito rápida em relação às formulações nanoestruturadas. Após 10 minutos de exposição à luz UV muitos isômeros foram formados, sendo a isotretinoína o mais importante. Após 1 hora de exposição à radiação UV, apenas cerca de 40 % da concentração inicial encontrava-se intacta. Quando o estudo da solução de tretinoína foi realizado durante 8 horas, a reação atingiu um estado fotoestacionário após 300-330 minutos de irradiação. Apenas 10 % da tretinoína permaneceu intacta e manteve-se constante após 8 horas de estudo. Neste estudo uma correlação linear entre a concentração de tretinoína e o tempo foi observada durante a primeira hora de irradiação. O tempo de meia-vida foi proporcional à concentração inicial de tretinoína, e quanto mais concentradas as formulações, maior foi a fotoestabilidade. O comportamento de fotodegradação ao longo do experimento pode ser tratado como um modelo de ordem zero, considerando que houve uma correlação linear entre a concentração de tretinoína e o tempo de exposição.

Os dados obtidos mostram que a encapsulação da tretinoína nas vesículas nanoestruturadas levou a uma redução no processo de fotodegradação deste fármaco e que a fotoproteção oferecida pelas vesículas varia em função da estrutura e composição vesicular. Formulações de niossomas melhoraram ligeiramente a fotoestabilidade da tretinoína. O tempo de meia-vida foi 3 a 7 vezes maior do que o fármaco livre. Dentre as formulações de niossomas, os melhores resultados obtidos foram para aqueles preparados a partir de tensoativos não-iônicos, cujos monômeros apresentam uma ligação éter (Brij 30[®] e Triton CG110[®]). Niossomas preparados com monopalmitato de sorbitano e monoestearato de sorbitano não apresentaram diferenças estatísticas na sua capacidade de fotoproteção. Por outro lado, as dispersões de lipossomas unilamelares grandes e pequenos demonstraram uma pequena melhora na fotoestabilidade da tretinoína. A baixa fotoproteção oferecida pelas formulações vesiculares preparadas com ésteres de sorbitano foi atribuída pela provável baixa estabilidade da bicamada, na qual a ligação éster dos monômeros pode ser facilmente hidrolisada. Os resultados obtidos após 8 horas de irradiação UV mostraram que os lipossomas e niossomas preparados a partir de Brij 30[®] apresentaram uma maior proteção da tretinoína frente à luz UV do que a solução metanólica. Por outro lado, os niossomas compostos de ésteres de sorbitano e lipossomas compostos de Triton CG110[®] apresentaram uma baixa proteção da tretinoína.

Adicionalmente, a fotodegradação do fármaco livre e do fármaco incorporado nas vesículas também foi estudada após a exposição à luz fluorescente por 21 dias. As reações fotoquímicas a luz UV são potencialmente mais prejudiciais, mas longas exposições à luz

solar direta, assim como à luz artificial também podem ser muito danosas para fármacos fotossensíveis. Neste caso, a fotodegradação da tretinoína em solução metanólica foi muito rápida nos primeiros 5 dias de exposição à luz fluorescente, seguida de um estado fotoestacionário. As análises quantitativas por cromatografia líquida demonstraram que a tretinoína livre degradou-se em uma mistura de produtos similares àqueles obtidos sob exposição à radiação UV.

Os resultados sugerem que a fotoestabilidade da tretinoína é fortemente afetada pela própria estabilidade vesicular, que por sua vez, depende da composição da bicamada vesicular. Formulações vesiculares preparadas com monômeros anfifílicos com ligação éter proporcionam uma fotoproteção mais eficiente ao fármaco, pois elas são mais estáveis. Provavelmente, a presença da água na formulação possui um efeito desestabilizador sobre a membrana vesicular das vesículas de P90, monopalmitato de sorbitano e monoestearato de sorbitano, como consequência da hidrólise da ligação éster. Além disso, as moléculas de P90 podem ser oxidadas quando expostas à luz fluorescente e isso pode explicar a baixa proteção oferecida pela formulação contendo P90 em comparação com os resultados obtidos sob radiação UV. Apesar disso, bons níveis de fotoproteção foram oferecidos pelas formulações contendo P90H em que as funções do monômero éster são menos reativas que os do P90, devido à temperatura de transição do P90H que é mais elevada.

Formulações vesiculares contendo Brij 30[®] e Triton CG110[®], cujos monômeros contem ligações éter, são mais estáveis e, portanto, oferecem uma proteção mais eficiente a tretinoína. Os resultados demonstraram que a estabilidade da tretinoína pode ser melhorada pela sua incorporação em bicamadas vesiculares. Entretanto, a estabilidade do fármaco em suspensões vesiculares é afetada pelas propriedades das vesículas. Portanto, a composição e a estrutura das vesículas devem ser consideradas em formulações de lipossomas e niossomas de fármacos fotossensíveis. Na verdade, a maior estabilidade da tretinoína foi obtida quando ela foi incorporada em niossomas contendo tensoativos não-iônicos com a ligação éter ou em lipossomas contendo fosfolipídeos hidrogenados com alta temperatura de transição. Além disso, vesículas unilamelares em geral, mostraram uma maior proteção da tretinoína do que os lipossomas multilamelares. Neste aspecto, niossomas unilamelares preparados com Brij 30[®] foram as formulações que apresentaram a maior fotoproteção do fármaco.

A fotoestabilidade do amlodipino em lipossomas foi avaliada por Ragno e colaboradores em 2003. Os lipossomas com estrutura unilamelar foram preparados por sonicação de 1 g de fosfolipídeos de gema de ovo (60 % de fosfaditilcolina) com 10 mL de água, sob uma corrente de nitrogênio por 60 minutos. A incorporação de amlodipino foi

realizada sob corrente de nitrogênio por 20 minutos de sonicação até a obtenção de uma solução com aspecto translúcido. Lipossomas sem o fármaco também foram preparados da mesma maneira.

O processo de fotodegradação foi realizado de acordo com as condições sugeridas pelo ICH (ICH, 1996) para testes de fotoestabilidade. Foi utilizada uma cabine Suntest CPS+ (Heraeus, Milão, Itália) equipada com lâmpada de xenônio (350 W/m^2 , correspondendo a 21 kJ/min/m^2). A temperatura de 25°C foi controlada por dispositivo eletrônico e os resultados foram mensurados por espectrofotometria.

As amostras foram submetidas à irradiação em tempos crescentes (0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 2,00; 3,00; 6,00 e 9,00 horas), diluindo as amostras em etanol. Os resultados demonstraram que a incorporação do fármaco em lipossomas reduziu fortemente o processo de fotodegradação. Com o objetivo de avaliar a estabilidade de soluções de lipossomas sem o fármaco, o mesmo procedimento para fotoestabilidade foi realizado para amostras de lipossomas puros. Não houve mudanças entre o espectro antes e após a exposição à luz, demonstrando que qualquer fotodegradação ocorrida durante o experimento foi insignificante em relação ao lipossoma.

O tempo de meia-vida do amlodipino incorporado em lipossomas foi de 23,62 horas, enquanto que a solução etanólica de amlodipino apresentou tempo de meia-vida de 1,12 horas. Amlodipino pode ser protegido da luz através da incorporação em lipossomas, onde a matriz previne a oxidação do fármaco por meio de barreiras químicas e físicas.

Em 2005, Ioele e colaboradores, estudaram a fotodegradação da tretinoína e da isotretinoína em lipossomas. A suspensão de lipossomas foi preparada a partir de fosfolípidos da gema do ovo (60 % de fosfatidilcolina) e água, de acordo com o procedimento descrito por Genchi e colaboradores (1999) e Ragno e colaboradores (2003). A incorporação da tretinoína e da isotretinoína nos lipossomas unilamelares foi realizada pela sonicação prolongada e, como controle, lipossomas foram preparados omitindo-se a presença do fármaco. O estudo de fotoestabilidade foi realizado em uma caixa Suntest CPS+ equipada com lâmpada de xenônio (300 - 800 nm), de acordo com o estudo de fotoestabilidade do ICH Guideline (ICH, 1996). A irradiação (250 W/m^2) foi realizada na temperatura de 25°C , controladas por dispositivo eletrônico no interior da caixa. As amostras foram irradiadas utilizando cubetas de quartzo de 1 cm. Como controle, foram utilizadas soluções etanólicas de tretinoína ($35 \mu\text{g/mL}$) e de isotretinoína ($32 \mu\text{g/mL}$). As amostras foram coletadas (0,1 mL), diluídas em etanol (10 mL) e analisadas por espectrofotometria no UV. A coleta foi realizada no início do experimento ($t = 0$) e em intervalos de tempo pré-determinados (0,5; 10; 30; 60;

80; 120; 140; 170; 200 e 240 minutos). As curvas do espectro obtidas a partir das soluções etanólicas de tretinoína e de isotretinoína expostas à luz apresentaram uma acentuada fotodegradação no início da irradiação e, após prolongada exposição à luz, o sinal mudou para comprimentos de onda menores, com a redução da absorvância em até 50 % comparado com o valor inicial. A exposição à luz da solução etanólica de tretinoína causou uma rápida degradação com a exibição da curva do espectro que foi praticamente sobreponível com o espectro do isômero 13-*cis*, caracterizado por uma mudança no pico máximo de 349 nm para 240 nm. Isso provou a completa isomerização do fármaco logo após alguns segundos de exposição à irradiação. O prolongamento do tempo de irradiação causou a degradação da recém formada isotretinoína (isômero 13-*cis*). As curvas do espectro mostraram uma mudança gradual do pico principal até 340 nm, que é o pico típico do isômero 9-*cis*. Tais resultados demonstram a alta sensibilidade da tretinoína e da isotretinoína à luz, sugerindo a importância do desenvolvimento de novas formulações capazes de minimizar a fotodegradação dos fármacos.

A incorporação da tretinoína em lipossomas reduziu significativamente a sua fotodegradação quando comparada com a solução etanólica. Nenhuma mudança no pico máximo da curva do espectro foi observada e não foi demonstrada a isomerização direta da tretinoína em 13- ou 9-*cis* isômeros. A fotoestabilidade da isotretinoína incorporada nos lipossomas aumentou quando comparada com a respectiva solução etanólica. Entretanto, a fotoproteção da isotretinoína incorporada nos lipossomas foi menor quando comparada com a fotoproteção da tretinoína incorporada nos lipossomas. Os autores sugerem que uma maior incorporação da tretinoína nos lipossomas é provavelmente favorecida pela estrutura linear dessa molécula, enquanto a presença da ligação *cis* na isotretinoína dificulta a sua incorporação nos lipossomas.

Um controle analítico na fotoestabilidade da matriz lipossômica também foi realizado, expondo três amostras de lipossomas nas mesmas condições experimentais adotadas para as amostras de lipossomas contendo fármaco. Nenhuma mudança significativa foi observada no espectro antes e após a exposição à luz, demonstrando claramente que qualquer fotodegradação ocorrida durante o experimento foi desprezível.

Análises de espectro de massas foram realizadas nas amostras antes de serem submetidas à irradiação e logo após a exposição à luz, confirmando as estruturas dos isômeros. A reação fotoquímica em solução etanólica demonstrou causar uma rápida isomerização tanto da tretinoína quanto da isotretinoína, que para ambos os casos seguiu uma cinética de primeira ordem.

Os lipossomas demonstraram aumentar o tempo de meia-vida da tretinoína cerca de 12 vezes em comparação com a tretinoína em solução etanólica. Os lipossomas descritos neste trabalho foram sugeridos como uma ferramenta valiosa para o desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas capazes de melhorar a fotoestabilidade dos ácidos retinóicos.

Em 2006, Carafa e colaboradores avaliaram a influência da incorporação do palmitato de retinila em vesículas unilamelares (compostas por fosfolípídeos e tensoativos) frente à fotodegradação induzida pela luz (lâmpada de 400 lux). Vesículas unilamelares (fosfolipídicas e não fosfolipídicas) compostas por polissorbato 80, monoestearato de sorbitano, colesterol, Phospholipon 100[®] e Phospholipon 100[®] hidrogenado foram obtidas através da técnica de hidratação do filme lipídico, previamente relatada por Yoshioka e colaboradores (1994) e Carafa e colaboradores (2002). Devido à natureza lipofílica do palmitato de retinila, o fármaco foi adicionado na fase orgânica inicial antes da formação do filme.

Para o estudo de fotodegradação as amostras foram purificadas através da filtração em gel (coluna Sephadex G-75, 50 x 1,2 cm), utilizando tampão Hepes como eluente. Esta purificação proporcionou a separação do fármaco não encapsulado das vesículas contendo palmitato de retinila. As amostras (balão volumétrico de 100 mL) foram expostas continuamente à luz em uma sala escura. A intensidade da luz foi ajustada para 400 lux (medida com Lutron LX-103) para cada amostra (vesícula fosfolipídica e não fosfolipídica), ajustando a distância entre a amostra e a fonte de luz. Amostras também foram mantidas no escuro, como referência. A intensidade da luz de 400 lux foi escolhida porque foi observado que para intensidades maiores (800 e 1200 lux) a taxa de degradação era muito rápida, não sendo possível avaliar as diferenças entre as diferentes formulações. Uma solução de palmitato de retinila em tetrahydrofurano (THF): água (9:1 v/v) foi utilizada como solução de referência para comparar a taxa de fotodegradação desta vitamina na presença e na ausência de estruturas vesiculares.

Em intervalos pré-determinados, 2 mL de cada amostra foram coletados, as amostras foram então liofilizadas para assegurar a completa perda do conteúdo de água. A amostra liofilizada foi dispersa em hexano e então filtrada em lã de vidro e Na₂SO₄ anidro, a solução filtrada foi completada até 5 mL com hexano. A análise das amostras foi realizada em triplicata e as amostras obtidas foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Na validação do método analítico foram determinadas a linearidade e a repetibilidade, calculados como descritos por Scalzo e colaboradores (2004). Em todas as amostras analisadas no escuro a degradação do palmitato de retinila demonstrou uma cinética

de ordem zero, enquanto que aquelas que foram irradiadas pela luz (400 lux) seguiram uma cinética de fotodegradação de primeira ordem.

A incorporação do palmitato de retinila em lipossomas fosfolipídicos não levou a diferenças significativas na taxa de fotodegradação, tanto para as amostras que permaneceram no escuro, quanto para as que foram submetidas à irradiação da luz (400 lux), em comparação com a solução utilizada como referência. Além disso, comparando a fotodegradação do palmitato de retinila após a incorporação em estruturas vesiculares, no escuro a taxa de degradação foi similar para lipossomas compostos por polissorbato 20 e colesterol e para a solução de referência, enquanto que a inclusão da substância em lipossomas não fosfolipídicos (compostos por monoestearato de sorbitano e colesterol) demonstrou um aumento substancial na taxa de fotodegradação. Esse efeito inesperado foi relacionado a presença das cadeias de polietilenoglicol na superfície das vesículas preparadas a partir de polissorbato 20 que aumentam a espessura da camada aquosa ao redor das estruturas vesiculares. Esta camada provavelmente diminui a permeabilidade do oxigênio na bicamada da vesícula, controlando a taxa de fotodegradação do palmitato de retinila. Por outro lado, as formulações compostas por estruturas vesiculares com monoestearato de sorbitano, quando expostas a luz, aumentam a taxa de fotodegradação do palmitato de retinila, de acordo com dados relatados por Manconi e colaboradores (2003).

Os autores concluíram que a incorporação de palmitato de retinila em lipossomas unilamelares ou em bicamadas vesiculares não possibilita a prevenção da sua fotodegradação. Nas estruturas vesiculares analisadas, o fármaco estava localizado na bicamada vesicular e parcialmente exposto na fase externa aquosa, desta maneira, nenhuma proteção da sua fotodegradação pode ser evidenciada em comparação com a solução de referência (TFH:água 9:1). Segundo os autores, estas informações estão de acordo com dados relatados por Young e Gregoriadis (1996), indicando que a estabilidade de moléculas que reagem através de processos biomoleculares (fotólise do retinol) não pode ser melhorada em bicamadas vesiculares onde as moléculas do fármaco podem interagir umas com as outras.

Ragno e colaboradores, em 2006, estudaram a degradação fotoinduzida de fármacos diidropiridínicos. Lipossomas foram preparados e a sua capacidade fotoprotetora para os fármacos em questão foram avaliadas. O estudo de fotoestabilidade foi realizado conforme ICH, onde as formulações foram expostas a lâmpadas de xenônio e a fotodegradação dos fármacos foi analisada por espectrofotometria. Após 30 minutos de exposição à luz (21 kJ.min/m²) 77 % dos fármacos associados aos lipossomas encontravam-se intactos. Uma

comparação com formulações farmacêuticas comerciais demonstraram uma ótima fotoproteção dos fármacos diidropiridínicos quando incorporados em lipossomas.

A fotodegradação de fluoroquinolonas (ciprofloxacino, ofloxacino e lomefloxacino) incorporadas em lipossomas foi analisada por Budai e colaboradores em 2008. As vesículas foram submetidas a diferentes intensidades de luz UVB. Foram preparadas vesículas multilamelares utilizando α -L-dipalmitoil- fosfatidilcolina (DPPC) ou uma mistura de DPPC com dioleoil-fosfatidilcolina (DOPC), as vesículas unilamelares foram preparadas através de sonicação das suspensões das vesículas multilamelares. Os estudos de fotodegradação foram realizados utilizando lâmpada FS-20 (40 W), emitindo principalmente radiação UVB ($\lambda = 280\text{-}320$ nm). As formulações de fluoroquinolonas livre ou associadas a lipossomas foram colocadas em placas de Petri e expostas à luz UVB em temperatura ambiente. Durante a irradiação a intensidade da luz UVB foi mantida a $1,1 \pm 0,1$ mW/cm², a irradiação permaneceu entre 0 e 22 kJ/m². Após a irradiação, as amostras foram analisadas por espectrometria de massas.

Comparando a fotoestabilidade das fluoroquinolonas estudadas, o lomefloxacino demonstrou ser o mais fotolábil. Nas soluções aquosas de lomefloxacino, a constante de degradação foi aproximadamente 26 vezes maior do que na solução aquosa de ofloxacino. A constante de degradação para lomefloxacino incorporado nos lipossomas foi ligeiramente diferente da determinada para sua solução aquosa. A proximidade dos valores da constante de degradação pode-se concluir que a presença dos lipídeos não acelera ou inibe significativamente a fotodegradação induzida pela luz UVB do lomefloxacino, em comparação com a sua solução aquosa. Nas suspensões de lipossomas de lomefloxacino as taxas de degradação não diferiram notavelmente umas das outras, sendo que nenhuma diferença pode ser notada nos lipossomas com diferentes lamelaridades. Foi verificado que a dose máxima de 22 kJ/m² de UVB aplicada nos experimentos não levou a degradação dos lipídeos DPPC e DOPC. Enquanto a lamelaridade das vesículas de DPPC não influenciam a fotodegradação do lomefloxacino, a composição do lipídeo tem um impacto significativo sobre isso, a presença de cadeias de ácidos graxos insaturados na bicamada dos lipossomas altera a maneira de fotodegradação do lomefloxacino, resultando em diferentes fotoprodutos.

A Tabela 1 apresenta um resumo dos trabalhos comentados a respeito dos estudos de fotoestabilidade de fármacos e substâncias encapsuladas em lipossomas ou niossomas.

Tabela 1. Estudos de fotoestabilidade de substâncias encapsuladas em vesículas lipídicas (lipossomas e niossomas).

Tipo de vesícula	Fármaco ou ativo	Tipo de Radiação	Cinética de degradação	Principal resultado	Referência
Lipossomas	Riboflavina	Lâmpada fluorescente	Primeira ordem	A incorporação da riboflavina em lipossomas neutros e com carga negativa aumentou sua fotoestabilidade	Habib & Asker, 1991.
Niossomas e lipossomas	Tretinoína	UV 366 nm (lâmpada de 30 W) e luz fluorescente (460 lux)	Ordem zero	Tempo de meia-vida dos da tretinoína associada aos niossomas aumentou cerca de 3 a 7 vezes em relação ao fármaco em solução	Manconi <i>et al.</i> , 2003.
Lipossomas	Amlodipino	Lâmpada de Xenônio UVA 350 W/m ²	-	Tempo de meia-vida de amlodipino incorporado em lipossomas foi 21,08 vezes maior do que amlodipino em solução etanólica	Ragno <i>et al.</i> , 2003.
Lipossomas	Tretinoína e Isotretinoína	Lâmpada de Xenônio 250 W/m ²	-	Lipossomas aumentam o tempo de meia-vida da tretinoína em cerca de 12 vezes comparado com a tretinoína em solução metanólica	Ioele <i>et al.</i> , 2005.
Lipossomas	Palmitato de retinila	Lâmpada de 400 lux	Primeira ordem	Não protege da fotodegradação	Carafa <i>et al.</i> , 2006.
Lipossomas	Fármacos diidropiridínicos	Lâmpada de Xenônio	-	Lipossomas protegem os fármacos da fotodegradação quando comparados com formulações comerciais	Ragno <i>et al.</i> , 2006.
Lipossomas	Fluoroquinolonas	Lâmpada 40 W (UVB)	-	Lipossomas não aceleram ou inibem a fotodegradação do lomefloxacino induzida pela luz UVB	Budai <i>et al.</i> , 2008.

4.2 NANOPARTÍCULAS DE LIPÍDEO SÓLIDO

De acordo com a composição da matriz, as nanopartículas lipídicas podem ser classificadas em nanopartículas de lipídeo sólido (NLS) e em carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) (Figura 2), sendo amplamente aplicadas na área dermatológica e cosmética e apresentando a facilidade de transposição de escala. As NLS foram desenvolvidas no começo da década de 90, como sistemas carreadores alternativos para emulsões, lipossomas e nanopartículas poliméricas, porém, apresentam uma baixa eficiência de encapsulação de ativos. Estas partículas são preparadas com a substituição do lipídeo líquido das emulsões O/A por um lipídeo sólido e estabilizadas por tensoativo. Com o objetivo de aumentar a eficiência de encapsulação foram desenvolvidos os CLN, que apresentam uma mistura de lipídeos sólidos e líquidos, proporcionando uma diminuição da expulsão do fármaco durante o armazenamento (Pardeike *et al.*, 2009).



Figura 2. Esquema ilustrativo de nanopartículas lipídicas sólidas (Fonte: www.azonano.com).

Carlotti e colaboradores (2005^a) prepararam emulsões O/A de NLS com palmitato de retinila. As NLS protegeram o palmitato de retinila da fotodegradação induzida por radiação UVA e UVB. Esse efeito é provavelmente devido às propriedades dispersantes da luz que as NLS apresentam. As NLS também protegeram o fármaco de degradação térmica. Em outro trabalho, os mesmos autores (Carlotti *et al.*, 2005^b) estudaram a incorporação de p-metoxicinamato de octila (OMC) em NLS com o objetivo de melhorar a fotoestabilidade do filtro UV. A taxa de fotodegradação do OMC foi investigada por espectrofotometria. Verificou-se que a taxa de fotodegradação é significativamente dependente da concentração inicial da substância ativa e pode ser reduzida pela metade em formulações de NLS. Quando diferentes concentrações de tensoativos não-iônicos foram comparadas, foi verificado que o OMC degradou mais rapidamente na formulação contendo poucas micelas do tensoativo.

Em 2006, Jee e colaboradores prepararam nanopartículas de lipídeo sólido (NLS) contendo all-trans retinol. As NLS foram preparadas pelo método de homogeneização a quente. Foi utilizado como lipídeo sólido o DS-CBS. Como tensoativos foram utilizados a fosfatidilcolina da gema do ovo e polissorbato 80 e uma mistura de butil hidroxitolueno- butil hidroxianisol (BHT-BHA), vitamina C e tocoferol foi utilizada para ação antioxidante.

As amostras foram irradiadas com lâmpadas de 60 W para estudar a fotoestabilidade do fármaco. As NLS foram divididas em dois grupos: num dos grupos as amostras (1,5 mL) foram colocadas em tubos transparentes de polipropileno e no outro grupo as amostras (1,5 mL) foram colocadas em tubos de polipropileno que impede a passagem de luz. Em seguida, uma lâmpada de 60 W foi posicionada a 80 cm de altura das amostras e as mesmas foram irradiadas por até 72 horas. Alíquotas de 50 µL foram retiradas de cada amostra em intervalos de tempo pré-determinados, tratadas e analisadas por cromatografia líquida para quantificação do all-trans retinol.

Neste estudo, a concentração de all-trans retinol na solução metanólica diminuiu rapidamente durante a exposição à luz, a temperatura ambiente, sendo que em 3 horas, menos de 30 % do all-trans retinol original estava presente na solução metanólica. A velocidade de fotodegradação do all-trans retinol associado às NLS foi menor do que na solução metanólica. Entretanto, em cada intervalo de tempo, nenhuma diferença significativa no conteúdo de all-trans retinol foi observada entre a amostra de NLS contendo all-trans retinol exposta à luz e a protegida da luz. Por exemplo, depois de 12 horas de incubação, 57 % e 54 % de all-trans retinol encapsulado nas NLS degradaram nas amostras expostas a luz e protegidas da luz, respectivamente. As formulações de NLS foram efetivas, protegendo a desestabilização de all-trans retinol induzida pela luz, embora a diminuição do teor de all-trans retinol foi muito mais rápida quando encapsulado nas NLS independentemente da exposição à luz: 46 % (exposto à luz) e 43 % (protegido da luz) de all-trans retinol permaneceram intactas após a incubação por 12 horas de all-trans retinol incorporado em NLS. Esses dados indicam que as formulações de NLS não protegem significativamente all-trans retinol da fotodegradação por exposição à luz, não sendo possível explicar porque as NLS diminuem a fotoestabilidade do all-trans retinol. A degradação do all-trans retinol pode ser dependente do tipo e da constituição do lipídeo que podem sofrer auto-oxidação quando expostos ao ar e a água. Para tentar solucionar esta degradação, foram preparadas NLS contendo BHT/BHA, onde estes antioxidantes proporcionaram a estabilização do all-trans retinol.

A degradação fotoquímica do protetor solar p-metoxicinamato de octila (OMC) foi estudada por Carlotti e colaboradores em 2007. Estudos foram realizados em diferentes

veículos: Finsolv TN[®], emulsão O/A e emulsão gel. A fotólise do OMC foi realizada utilizando lâmpada UVB e a cinética de degradação foi estudada com diferentes concentrações iniciais do fármaco. O estudo foi realizado comparando as formulações com OMC livre e incorporado em NLS. As amostras foram analisadas por CLAE, com detector UV-Visível. Os resultados sugerem que quanto menor a concentração do OMC nas formulações, mais pronunciada é a sua taxa de fotodegradação. Em todas as formulações, a incorporação do OMC em NLS levou a sua proteção da radiação UV.

Shah e colaboradores (2007) avaliaram a capacidade das nanopartículas de lipídeo sólido (NLS) em melhorar a fotoestabilidade da tretinoína em comparação com sua solução metanólica pelo método sugerido por Ioele e colaboradores (2005). As NLS foram preparadas pelo método de emulsificação difusão do solvente (EDS) com sólidos, como o monoestearato de gliceril (MSG).

A fotodegradação foi monitorada através do espectro de absorção na faixa de comprimento de onda de 200 a 500 nm, em célula de quartzo de 10 mm. As amostras (10 mL) de solução metanólica do fármaco e da tretinoína associada à NLS (concentração de 10 µg/mL) foram expostas à luz natural e à radiação UV (lâmpada de xenônio) e analisadas logo após o preparo ($t = 0$) e nos intervalos de tempo de 5, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos, após a adequada diluição com metanol. No caso das NLS, a correção da linha de base foi realizada utilizando uma dispersão placebo diluída adequadamente com metanol para anular qualquer possível absorção decorrente do sólido.

A exposição à luz da tretinoína em solução metanólica levou a uma fotodegradação acentuada nos primeiros minutos de irradiação. A taxa de fotodegradação da tretinoína diminuiu após 5 minutos, mas o processo de fotodegradação continuou, deixando um pequeno resíduo de concentração do fármaco de aproximadamente 12 % após 180 minutos. A incorporação da tretinoína em NLS reduziu a fotodegradação em comparação com a fotodegradação da tretinoína em solução metanólica. A concentração residual após 180 minutos de irradiação foi de aproximadamente 71 % de tretinoína, o que foi significativamente maior em comparação a concentração em solução metanólica após o mesmo período. Assim, os autores concluíram que as NLS apresentam um bom potencial em melhorar a fotoestabilidade da tretinoína e que estas nanopartículas podem ser empregadas como uma estratégia para liberação de substâncias ativas fotolábeis.

Em 2008, Carafa e colaboradores investigaram a fotodegradação induzida pela luz (400 lux) do palmitato de retinila, uma vitamina derivada do all-trans retinol, quando encapsulado

em nanopartículas de sólido (NLS) com alta proporção de tensoativo na presença e na ausência do agente conservante lipofílico BHA (3-terc-butil-4-hidroxianisol).

Neste trabalho, o estudo de fotoestabilidade foi realizado de acordo com a metodologia anteriormente utilizada por Carafa e colaboradores (2006). As amostras de palmitato de retinila protegidas da luz apresentaram cinética de ordem zero, enquanto que as amostras expostas a luz seguiram a cinética de primeira ordem.

A incorporação do palmitato de retinila em NLS não levou a diferenças significativas na taxa de fotodegradação, tanto para as amostras que permaneceram protegidas da luz quanto para as que foram submetidas à irradiação, em comparação com a solução utilizada como referência (THF:água 9:1), estes resultados estão de acordo com os obtidos por Jee e colaboradores (2006).

Os resultados deste estudo estão de acordo com os relatados para lipossomas contendo palmitato de retinila (Carafa *et al.*, 2006), onde o ativo fica preferencialmente localizado na bicamada da vesícula, proporcionando um aumento na taxa de fotodegradação quando comparado com a solução de referência. A adição de BHA na formulação de NLS não melhorou a estabilidade do palmitato de retinila e esses dados não estão de acordo com as observações do estudo de Jee e colaboradores (2006) no qual a estabilização do all-trans retinol foi alcançada pela adição da mistura de agentes antioxidantes nas formulações de NLS. Isto está provavelmente relacionado aos menores tamanhos de nanopartículas preparadas por Carafa e colaboradores (2008), oferecendo uma maior superfície de contato para o processo fotodegradativo.

Carlotti e colaboradores (2009) estudaram a influência de diferentes formulações (microemulsões, emulsão O/A, emulsão gel e gel) na cinética de fotodegradação do ditranol, um fármaco utilizado para o tratamento tópico da psoríase. A taxa de fotodegradação foi comparada com a concentração inicial do fármaco e com a natureza do veículo. As NLS foram preparadas pela técnica de injeção de solvente, para investigar se a inclusão na matriz lipídica pode aumentar a fotoestabilidade do fármaco. Os resultados demonstraram que a incorporação do fármaco em NLS dispersos em emulsão gel reduziu a sua taxa de fotodegradação.

A Tabela 2 apresenta um resumo dos trabalhos comentados a respeito dos estudos de fotoestabilidade de fármacos e substâncias encapsuladas em nanopartículas de lipídeo sólido.

Tabela 2. Estudos de fotoestabilidade de substâncias encapsuladas em nanopartículas de lipídeo sólido.

Tipo de partícula	Fármaco ou ativo	Tipo de radiação	Principal resultado	Referência
NLS	Palmitato de retinila	UVA e UVB	Proteção do palmitato de retinila contra a radiação UV	Carlotti <i>et al.</i> , 2005 ^a .
NLS	p-metoxi-cinamato de octila	UV	A taxa de fotodegradação é dependente da concentração inicial do filtro e é reduzida a metade em formulações de NLS	Carlotti <i>et al.</i> , 2005 ^b .
NLS	All trans-retinol	Lâmpadas 60 W	Formulações de NLS não protegem significativamente o all trans-retinol da fotodegradação	Jee <i>et al.</i> , 2006.
NLS	p-metoxi-cinamato de octila	UVB	Quanto menor a concentração do OMC incorporado em NLS maior é a sua taxa de fotodegradação	Carlotti <i>et al.</i> , 2007.
NLS	Tretinoína	Lâmpada de xenônio	Aumento na fotoestabilidade da tretinoína	Shah <i>et al.</i> , 2007.
NLS	Palmitato de retinila	Lâmpada 400 lx	Inclusão em NSL não levou a diferenças significativas na taxa de degradação do palmitato de retinila	Carafa <i>et al.</i> , 2008.
NLS	Ditranol	-	A incorporação do ditranol em NLS dispersos em emulsão gel reduziu a sua taxa de degradação	Carlotti <i>et al.</i> , 2009.

4.3 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

As nanopartículas poliméricas são sistemas carreadores de fármacos que apresentam diâmetro inferior a 1 μm . O termo nanopartícula inclui as nanocápsulas e as nanoesferas, as quais diferem entre si segundo a composição e organização estrutural (Figura 3). As nanocápsulas apresentam um núcleo composto por óleo rodeado por um polímero e as nanoesferas são compostas apenas pela matriz polimérica (Mora-Huertas *et al.*, 2010). Nestas nanopartículas o fármaco pode estar dissolvido, disperso ou adsorvido à parede polimérica (Schaffazick *et al.*, 2003). As nanocápsulas apresentam algumas vantagens em relação às nanoesferas, como a eficiência de encapsulação de fármacos lipofílicos, devido a presença do núcleo oleoso e o baixo teor de polímero. Ainda, a parede polimérica impede o contato direto do fármaco dissolvido no óleo com o tecido, reduzindo a irritação tecidual, ajuda a impedir a liberação imediata do fármaco e tem a função de proteger o fármaco contra a degradação causada pelo pH e pela luz (Anton *et al.*, 2008).

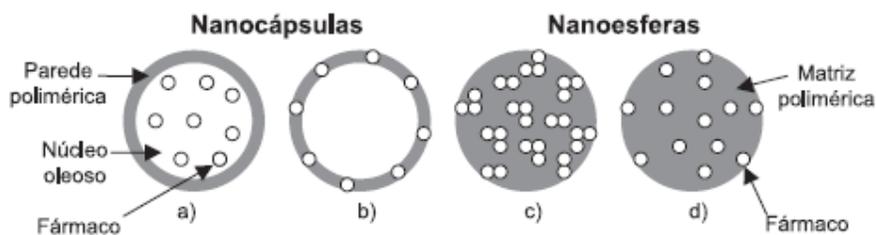


Figura 3. Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas (Fonte: Schaffazick *et al.*, 2003).

Em 2002, Perugini e colaboradores, estudaram a fotodegradação de um agente fotoprotetor, trans-etilhexil-p-metoxicinamato (trans-EHMC), em nanoesferas poliméricas. Estas foram preparadas pelo método de “salting out”, utilizando os polímeros poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) ou etilcelulose (EC), álcool polivinílico e solução aquosa de CaCl_2 . Experimentos de fotodegradação também foram realizados em formulações do tipo loção (emulsão óleo em água) contendo trans-EHMC (0,15 % p/p), monoestearato de sorbitano, polioxietileno, hidroxianisol butilado, ácido p-hidroxibenzoico metil éster, isoestearato de isopropila, isononanoato de cetearila, álcool cetearil, D-sorbitol, ácido dehidroacético, EDTA e água, que foi selecionada como formulação controle, pois representa o tipo mais comum de formulação com protetores solares, simulando as condições reais de uso.

Amostras (220-250 mg) contendo trans-EHMC livre ou incorporado em nanopartículas foram colocadas em cubetas de quartzo (caminho óptico de 2 mm) e então expostas a um simulador solar, que consiste em lâmpada de xenônio-mercúrio de 200 W (Hanovia 901-B1), com lentes de focalização para centralizar a luz na amostra, com filtro WG 300 para excluir os comprimentos de onda menores que 290 nm. A emissão do simulador solar foi medida por radiômetro Goldlux (Oriel Corporation, USA) e foi mantida entre 0,4 e 2,5 mW/cm² de UVA e UVB (320-400 nm), respectivamente. As amostras foram colocadas na frente da porta de saída do simulador solar e ventiladas durante a irradiação. Após o intervalo de exposição escolhido (4 horas), a cubeta foi removida e o seu conteúdo quantitativamente transferido para balão volumétrico de 10 mL, diluído com metanol e filtrado. Uma alíquota de 5 µL da solução resultante foi analisada por CLAE. Todas as amostras foram armazenadas sob proteção da luz após a irradiação, até o momento da análise. O percentual de fotodegradação foi medido comparando as áreas dos picos de trans-EHMC das amostras irradiadas com aquelas obtidas por análise de uma quantidade equivalente de preparações não expostas à radiação.

Uma redução estatisticamente significativa do percentual de fotodegradação foi observada na loção contendo o protetor solar associado às nanopartículas de PLGA (de 52,3 ± 2,7 da formulação contendo o ativo livre para 38,3 ± 2,1 da formulação contendo o ativo nanoencapsulado). Em contraste com este resultado, a decomposição induzida pela irradiação do protetor solar não foi significativamente afetada pela encapsulação em nanopartículas de etilcelulose (de 49,1 ± 6,9 da formulação contendo o ativo livre para 52,4 ± 5,9 da formulação contendo o ativo nanoencapsulado). Os resultados obtidos demonstraram que a preparação de trans-EHMC incorporados em nanopartículas de PLGA foi eficaz na redução da degradação induzida pela luz.

A energia UVB aplicada às amostras foi correspondente a 20 doses eritematosas mínimas (DEM), que é considerado comparável a uma emissão solar diária. O único produto de degradação originado pela irradiação do trans-EHMC, o cis-EHMC, foi identificado por cromatografia gasosa com detector de massas e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear. O isômero cis absorve a radiação UV com uma menor eficiência do que o trans. Assim, a isomerização fotoinduzida do filtro solar diminui sua capacidade de proteção contra radiação UV.

Em 2008, Ourique e colaboradores, realizaram estudos de fotodegradação da tretinoína nanoencapsulada em partículas poliméricas. As suspensões de nanocápsulas foram preparadas pelo método de deposição interfacial de polímeros pré-formados, avaliando-se o emprego de

duas fases oleosas diferentes: mistura de triglicerídeos cáprico/caprílico e óleo de semente de girassol. A poli (ϵ -caprolactona) foi utilizada como polímero. Com o objetivo de verificar a influência da camada polimérica, nanoemulsões foram preparadas omitindo o polímero.

As nanocápsulas e uma solução metanólica de tretinoína (2 mL em cubetas de quartzo de 1 cm) foram expostas a radiação UVC artificial (lâmpada Phillips TUV long life, 30 W) por 1 hora na distância fixa de 10 cm (n=3). Duzentos microlitros de amostra foram coletadas a cada 10 minutos e diluídas com acetonitrila para quantificar a tretinoína por CLAE. Para descartar a possibilidade de degradação térmica, estudos similares foram conduzidos com amostras recobertas com papel alumínio (para proteger da luz UV).

O perfil de fotodegradação da tretinoína em solução metanólica foi de acordo com uma cinética de primeira ordem, enquanto que os dados obtidos nos experimentos de fotodegradação da tretinoína encapsulada nas nanocápsulas e nanoemulsões se ajustaram de acordo com a cinética de ordem zero. A tretinoína em solução metanólica apresentou um tempo de meia-vida de 40 minutos, enquanto que a tretinoína encapsulada nas diferentes nanocápsulas apresentaram tempo de meia-vida entre 85 e 100 minutos. As nanoemulsões também apresentaram um potencial para melhorar a fotoestabilidade da tretinoína. Entretanto, esta melhora foi menor, apresentando um tempo de meia-vida entre 69 e 82 min. Estes resultados demonstram a importância da presença do polímero para prevenir a fotodegradação da tretinoína. O uso de diferentes fases oleosas não demonstrou diferença estatística na proteção contra a fotodegradação, tanto para nanocápsulas quanto para nanoemulsões. A melhor fotoproteção apresentada pelas nanocápsulas contra a fotodegradação da tretinoína induzida por UV foi atribuída à cristalinidade do polímero, que daria a este a habilidade de refletir e espalhar a radiação UV, conforme sugestão prévia de Perugini e colaboradores (2002).

Sistemas nanoestruturados contendo simultaneamente metoxicinamato de octila (OMC), um protetor solar químico, e quercetina, um antioxidante, foram avaliados quanto a sua fotoestabilidade sob radiação UVA por Weiss-Angeli e colaboradores, 2008.

Nanocápsulas foram preparadas pelo método de deposição interfacial de polímeros pré-formados, descrito por Fessi e colaboradores em 1989. Foram preparadas formulações com OMC, poli (ϵ -caprolactona), tensoativos (Epikuron 170[®] ou monoestearato de sorbitano) e quercetina. Para determinar a cinética de fotodegradação, soluções metanólicas de OMC e de quercetina foram preparadas.

Após a preparação, as formulações foram colocadas em cubetas de quartzo transparente (10 mm de caminho óptico) e expostas à radiação UVA. Lâmpadas fluorescentes

BLB (Blacklight blue lamps, 130 V e 30 W, ORION) foram utilizadas como fonte de UVA, sendo que este tipo de lâmpada emite até 2,5 % de radiação UVB e 97,5 % de radiação UVA. As amostras foram irradiadas em uma caixa espelhada, a uma distância de 16 cm das lâmpadas fluorescentes, durante 15 dias. A irradiação UV nesta distância foi de 16 W/m^2 e a dose total foi de $138,24 \text{ J/cm}^2$ por dia. Após esse período, as concentrações totais de quercetina e OMC foram quantificadas. A quercetina foi analisada por CLAE após dissolução das nanocápsulas em acetonitrila e OMC foi quantificado por espectroscopia UV (Genesys, New York, USA) em 310 nm em metanol.

Com o objetivo de estudar a cinética de fotodegradação do OMC, uma solução metanólica de OMC foi também irradiada sob UVA. Considerando que OMC degrada em água, uma dispersão metanol/água foi também preparada e irradiada.

A solução metanólica de OMC seguiu uma cinética de ordem zero, enquanto que o OMC em dispersão metanol/água seguiu uma cinética de primeira ordem. As formulações de OMC com diferentes tensoativos (Epikuron 170[®] ou monoestearato de sorbitano) e preparadas com quercetina seguiram uma cinética de ordem zero, enquanto que as formulações onde a quercetina não estava presente apresentaram uma cinética de primeira ordem.

As nanocápsulas foram capazes de proteger o OMC e prolongar a sua fotoestabilidade em suspensões aquosas. Além disso, a presença de quercetina aumentou a estabilidade do OMC, e o uso simultâneo de monoestearato de sorbitano mostrou os melhores resultados. Para essa formulação o tempo de meia-vida foi 1,32 vezes maior comparando com OMC em solução metanólica e a cinética de degradação seguiu o modelo de ordem zero.

A quercetina retira as espécies reativas de oxigênio e pode proteger o OMC adiando a sua fotodegradação. Os mecanismos de proteção do OMC estão relacionados a capacidade antioxidante da quercetina e a habilidade das nanocápsulas de atuarem como protetor solar físico por espalhar a luz. A quercetina foi protegida nas nanocápsulas devido à absorção da luz pelo OMC e ao espalhamento da luz pelas nanocápsulas, atuando como um protetor solar físico e químico.

Em 2009, Almeida e colaboradores, avaliaram a utilização de dois óleos vegetais (óleo de semente de uva e óleo de amêndoas) para preparar nanocápsulas e nanoemulsões e analisaram o potencial destes sistemas nanoestruturados em prevenir a fotodegradação da benzofenona-3 sob radiação UVC. A radiação UVC foi escolhida devido às suas características mais energéticas e a relativa estabilidade da benzofenona-3, permitindo reduzir o tempo de

experimentação. Suspensões de nanocápsulas foram preparadas pelo método da deposição de polímeros pré-formados, empregando poli(ϵ -caprolactona) como polímero.

Após a preparação, as formulações de nanocápsulas foram transferidas para cubetas de quartzo transparente com caminho óptico de 5 mm e expostas à radiação UVC (lâmpada Phillips TUV-UVC, 30 W). As cubetas foram irradiadas por 168 horas (7 dias). As formulações foram colocadas a uma distância de 10 cm da lâmpada. Após 72 e 168 horas (3 e 7 dias, respectivamente) a concentração total de benzofenona-3 remanescente foi quantificada por CLAE. Uma solução metanólica de benzofenona-3 foi utilizada como modelo de benzofenona-3 livre, preparada na concentração de 1,00 mg/mL.

No começo do experimento, todas as formulações apresentavam concentração de benzofenona-3 próxima da concentração teórica 1,00 mg/mL. Após 72 horas, o conteúdo de benzofenona-3 na solução metanólica decaiu para 0,74 mg/mL, o que foi significativamente menor que todas as formulações nanoparticuladas (0,84 a 0,86 mg/mL). Entretanto, após 168 horas de radiação UV, o efeito fotoprotetor do encapsulamento da benzofenona-3 em nanocápsulas preparadas com óleo de semente de uva e óleo de amêndoas frente a fotodegradação foi mais pronunciado. O conteúdo de benzofenona-3 na solução metanólica decaiu de 0,92 a 0,21 mg/mL (próximo a 80% de fotodegradação), enquanto que para as formulações nanoestruturadas o conteúdo de benzofenona-3 decaiu somente 10-30%, atingindo concentrações entre 0,71 e 0,81 mg/mL.

A fotoestabilidade do propionato de clobetasol encapsulado em nanopartículas foi avaliada pela sua exposição à radiação UVA por Fontana e colaboradores em 2009. Nanocápsulas, nanoesferas e nanoemulsões contendo propionato de clobetasol foram preparados pelo método da deposição interfacial de polímeros pré-formados, nanoprecipitação e emulsificação espontânea, respectivamente, na concentração de 0,5 mg/mL. Os experimentos de fotodegradação foram realizados utilizando lâmpada UVA artificial (Fluorescent Blacklight Blue Lamps, 30 W, Ecolume). As formulações de nanopartículas (2 mL em cubetas de quartzo de 5 mm) foram expostos a radiação UVA por 24 horas a uma distância fixa de 16 cm. Como controle, foi avaliado a fotoestabilidade do propionato de clobetasol em solução etanólica. Após a exposição à luz UVA a quantificação do propionato de clobetasol foi realizada por CLAE, de acordo com um método previamente validado. O experimento foi conduzido até obter mais que 50 % de fotodegradação do propionato de clobetasol. Com o objetivo de descartar a hipótese de degradação térmica, experimentos similares foram realizados com todas as formulações e soluções cobertas com papel alumínio

(protegida da luz UV). Durante a irradiação, a intensidade da luz UVA foi monitorada e mantida em $1,0 \pm 0,1 \text{ mW/cm}^2$.

O perfil de fotodegradação das soluções com o fármaco livre (solução etanólica) e dos sistemas nanoestruturados (nanocápsulas, nanoesferas e nanoemulsões) seguiram uma cinética de primeira ordem. A encapsulação do fármaco em sistemas nanoestruturados reduziu claramente a taxa de fotodegradação comparada com a solução contendo o fármaco livre. As nanocápsulas contendo propionato de clobetasol apresentaram o maior tempo de meia-vida ($18,13 \pm 0,30 \text{ h}$), seguidas pelas nanoemulsões e nanoesferas ($16,79 \pm 0,54 \text{ h}$ e $14,61 \pm 0,52 \text{ h}$, respectivamente). Os resultados demonstram a importância da presença do polímero (poli- ϵ -caprolactona) e do óleo para prevenir a fotodegradação do propionato de clobetasol. A presença de ambos (polímero e o óleo) levou a melhor proteção contra luz UVA. A solução de propionato de clobetasol e as formulações nanoestruturadas contendo fármaco e envoltas em alumínio apresentaram mais de 95 % do fármaco intacto após 24 horas de irradiação. O resultado descarta qualquer degradação térmica e confirma a fotodegradação do fármaco pela radiação UVA. A incorporação do propionato de clobetasol nas nanopartículas proporcionou uma maior fotoestabilidade do fármaco, sendo que as nanocápsulas poliméricas foram mais eficientes do que as nanoesferas poliméricas e nanoemulsão.

Em 2009, Paese e colaboradores, delinearam um estudo para verificar um possível aumento da fotoestabilidade da benzofenona-3 nanoencapsulada incorporada em géis hidrofílicos, em comparação com uma formulação contendo a benzofenona-3 livre. As nanocápsulas foram preparadas pelo método da deposição interfacial do polímero pré-formados. Os hidrogéis foram preparados utilizando carbômero (0,83 %).

Para o estudo de fotoestabilidade, o gel foi espalhado na superfície das cubetas, as quais foram mantidas em dessecador por 24 horas. Após este período, os filmes foram irradiados com luz UVA de 90 W ($3,6 \text{ mW/cm}^2$) em intervalos de tempo pré determinados (1, 2, 3, 5, 7, 9, 11 e 13 horas). Após a extração da benzofenona-3 dos filmes utilizando água:acetonitrila (70:30 v/v), esta foi quantificada por CLAE. Para testar a pureza do pico cromatográfico foram realizadas análises empregando detector de fotodiodo. No comprimento de onda utilizado (289 nm), a benzofenona-3 foi o único produto em solução (99,99 % de pureza do pico).

Após 1 hora de exposição à luz UVA, os hidrogéis apresentaram teores semelhantes, de benzofenona-3 (86% e 91% para o hidrogel contendo benzofenona livre ou nanoencapsulada). Entretanto, após 3 horas de irradiação, os perfis de degradação foram diferentes. Ambas as formulações apresentaram diminuições paralelas no conteúdo de

benzofenona-3 entre 5 e 13 horas (50-29% e 80-56%, respectivamente). Desta forma, a nanoencapsulação de benzofenona-3 proporcionou uma proteção significativa neste intervalo de tempo para a benzofenona-3 frente a exposição a radiação UVA, explicado pelo espalhamento/dispersão da luz produzido pelas nanocápsulas poliméricas. Os resultados do teste de fotoproteção mostram que a benzofenona-3 incorporada em nanocápsulas atua simultaneamente como fotoprotetor químico e físico.

Em 2010, Almeida e colaboradores estudaram a fotoestabilidade da rutina em formulações de nanocápsulas e nanoemulsões, preparadas pelo método da deposição interfacial de polímeros pré-formados e emulsificação espontânea, respectivamente. O sistema de irradiação das amostras foi desenvolvido por Carvalho e colaboradores, em 2008, consistindo de lâmpadas de vapor de mercúrio de alta pressão de 400 W (Silvanis) como fonte de radiação UV, um sistema refrigerador baseado na circulação de ar e água, um termorregulador para o controle da temperatura, um suporte para 12 cubetas de quartzo e um bloco a base de alumínio. Nas cubetas de quartzo, 10 mL de cada amostra (suspensão de nanocápsulas e nanoemulsão contendo rutina e uma solução etanólica contendo a rutina livre) foram expostas a radiação UV por 30 minutos, coletando-se as amostras a cada 5 minutos.

O perfil de fotodegradação da rutina nas formulações nanoestruturadas (nanocápsulas e nanoemulsão) foi de acordo com a cinética de primeira ordem e as suas respectivas constantes de fotodegradação não foram significativamente diferentes. Entretanto, comparando a solução etanólica de rutina com ambas as formulações nanoestruturadas, estas apresentaram uma menor taxa de fotodegradação da rutina. Estes resultados demonstram que a incorporação da rutina em nanocápsulas ou nanoemulsões proporciona um aumento de 5,3 e 6,9 vezes na fotoestabilidade da rutina, respectivamente, durante 30 minutos de exposição à radiação UV. A presença do polímero não demonstrou influência significativa no aumento da fotoestabilidade da rutina.

Fontana e colaboradores, em 2010, prepararam nanocápsulas poliméricas com diferentes polímeros amorfos e analisaram se estes polímeros poderiam melhorar a fotoestabilidade do propionato de clobetasol nanoencapsulado frente à radiação UVA. As suspensões de nanocápsulas foram preparadas pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado, utilizando diferentes polímeros biodegradáveis, tais como poli(ácido láctico) (PLA) e poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) em duas diferentes proporções (50:50 e 85:15). Os experimentos de fotodegradação foram realizados utilizando lâmpada artificial UVA (Fluorescent Blacklight Blue Lamps, 30 W, Ecolume). As formulações (2 mL em cubetas de quartzo de 5 mm) foram expostas a radiação UVA por 24 horas, a uma

distância fixa de 16 cm. Durante a irradiação, a intensidade da luz UVA foi monitorada e mantida a $1,0 \pm 0,1 \text{ mW/cm}^2$. Após o intervalo de exposição adequado, 200 μL de amostra foram coletados, transferidos para balão volumétrico de 5 mL e diluídos com acetonitrila. O fármaco foi analisado por CLAE. O experimento foi conduzido até obter mais de 50 % de fotodegradação do fármaco.

O perfil de fotodegradação do propionato de clobetasol foi melhor ajustado ao modelo cinético de ordem zero, quando encapsulado em nanocápsulas preparadas com PLA. Os perfis obtidos a partir da solução etanólica contendo o fármaco livre e as formulações de nanocápsulas preparadas com PLGA 50:50 e PLGA 85:15 foram melhor ajustados ao modelo cinético de primeira ordem. A formulação preparada com PLGA 50:50 apresentou o maior tempo de meia-vida (21,09 horas), seguida pela formulação de PLA (19,75 horas) e pela formulação de PLGA 85:15 (19,41 horas) e a solução etanólica apresentou o menor tempo de meia-vida. Assim, a incorporação do fármaco nos sistemas nanoestruturados preparados com diferentes polímeros reduziu a taxa de fotodegradação do propionato de clobetasol, quando comparada com a solução contendo o fármaco livre. Levando em consideração que PLA ou PLGA são polímeros amorfos, esta comparação permite sugerir que se o fármaco é incorporado principalmente dentro nas nanocápsulas, as propriedades semicristalinas do polímero não influenciam na fotoproteção do fármaco contra a radiação UV. A nanoencapsulação do propionato de clobetasol em nanocápsulas de PLA e PLGA permitiu melhorar a fotoestabilidade contra a radiação UVA, demonstrando que a parede da nanocápsula preparada com polímeros amorfos também é capaz de proteger os fármacos encapsulados da radiação UV.

Com o objetivo de obter nanomedicamentos para administração parenteral de tretinoína, Ourique e colaboradores (2010) preparam nanocápsulas com núcleo lipídico contendo tretinoína e estudaram os seus efeitos fotoprotetores contra a exposição à radiação UV, comparando-se o efeito protetor de nanocápsulas convencionais com nanocápsulas de núcleo lipídico. Enquanto as nanocápsulas convencionais apresentam um núcleo oleoso, as nanocápsulas de núcleo lipídico apresentam um núcleo composto de uma dispersão de um líquido (mistura de triglicerídeos cáprico/caprílico) e um sólido (monoestearato de sorbitano). Os experimentos de fotodegradação foram realizados utilizando lâmpada UVC 30 W (UVC Phillips, TUV 30 W/G30T8) e lâmpada UVA 30 W (Fluorescent Blacklight Blue Lamps, 30 W, Ecolume). Duas cubetas de quartzo foram utilizadas para cada formulação. Uma delas foi coberta com papel alumínio para avaliar se o calor gerado na câmara poderia interferir na fotodegradação do fármaco. As amostras de nanocápsulas de núcleo lipídico e de

nanocápsulas convencionais foram expostas à radiação artificial (UVA ou UVC), a uma distância fixa de 10 cm. Os resultados foram comparados com o perfil de fotodegradação da amostra de tretinoína livre na mesma concentração (solução metanólica de tretinoína).

Comparando os resultados deste estudo com os resultados do trabalho de Ourique e colaboradores (2008), foi demonstrado que a mudança na estrutura da partícula (nanocápsula ou nanocápsula de núcleo lipídico) não afeta a propriedade fotoprotetora das nanocápsulas poliméricas, não interferindo no perfil de fotodegradação da tretinoína incorporada nas nanocápsulas frente à radiação UVC. A tretinoína incorporada em nanocápsulas de núcleo lipídico expostas à radiação UVC demonstrou que somente 37 % da concentração inicial do fármaco degradou após 1 hora, seguindo cinética de ordem zero. Quanto à fotodegradação induzida pela radiação UVA, as nanocápsulas de núcleo lipídico contendo tretinoína apresentaram 27 % da concentração inicial de tretinoína após 1 hora de irradiação, seguindo também uma cinética de ordem zero. Por outro lado, a solução metanólica de tretinoína apresentou uma maior fotodegradação após 1 hora de exposição UV (73 e 58 % para UVC e UVA, respectivamente). Dessa maneira, para ambos os tipos de radiação UV (UVA e UVC) a solução metanólica de tretinoína apresentou tempo de meia-vida duas a três vezes menor quando comparado com a formulação contendo tretinoína incorporada em nanocápsulas de núcleo lipídico. Além disso, a fotoproteção foi maior frente à radiação UVA, como pode ser observado pela diferença dos valores dos tempos de meia-vida para tretinoína incorporada em nanocápsulas de núcleo lipídico após exposição à luz UVA (124 ± 21 min) e UVC (85 ± 12 min) e a ausência dessa diferença para tretinoína livre (UVC 40 ± 4 min e UVA 45 ± 6 min). Sugere-se que a tretinoína incorporada em nanocápsulas de núcleo lipídico podem assegurar níveis adequados de tretinoína durante processos de manipulação e/ou administração em formulações farmacêuticas e que esses resultados podem contribuir significativamente para o desenvolvimento de nanomedicamentos.

A Tabela 3 apresenta um resumo dos trabalhos comentados a respeito dos estudos de fotoestabilidade de fármacos e substâncias encapsuladas em nanopartículas poliméricas.

Tabela 3. Estudos de fotoestabilidade de substâncias encapsuladas em nanopartículas poliméricas (nanocápsulas e nanoesferas).

Tipo de partícula	Fármaco ou ativo	Tipo de Radiação	Cinética de degradação	Principal resultado	Referência
Nanoesferas	Trans- EHMC	Lâmpada de Xenônio-	-	Diminuiu a taxa de fotodegradação do trans-EHMC	Perugini <i>et al.</i> , 2002.

		Mercúrio 200 W		encapsulado em nanopartículas preparadas com PLGA	
Nanocápsulas	Tretinoína	Lâmpada UV 30 W	Ordem zero	Tempo de meia-vida do fármaco nanoencapsulado 2,37 vezes maior do que o fármaco em solução	Ourique <i>et al.</i> , 2008.
Nanocápsulas	metoxicinamato de octila (OMC) e quercetina	Lâmpada UVA 30 W	Ordem zero	Nanocápsulas contendo OMC e quercetina com monoestearato de sorbitano na formulação apresentaram tempo de meia-vida 1,32 vezes maior do que a solução metanólica de OMC	Weiss-Angeli <i>et al.</i> , 2008.
Nanocápsulas e Nanoemulsões	Benzofenona-3	Lâmpada UVC 30 W	-	Fotoestabilidade foi melhor após a encapsulação em sistemas nanoparticulados, independente do tipo de óleo e do tipo de partícula	Almeida <i>et al.</i> , 2009.
Nanocápsulas, nanoesferas e nanoemulsões	Propionato de clobetasol	Lâmpada UVA 30 W	Primeira ordem	Nanocápsulas obtiveram maior tempo de meia vida em relação a solução do fármaco (1,65 vezes), seguida por nanoemulsões e nanoesferas	Fontana <i>et al.</i> , 2009.
Nanocápsulas	Benzofenona-3	Lâmpada UVA 90 W	-	Nanoencapsulação retardou a fotodegradação da benzofenona-3	Paese <i>et al.</i> , 2009.
Nanocápsulas e Nanoemulsões	Rutina	Lâmpada de mercúrio de 400 W	Primeira ordem	Incorporação da rutina em nanocápsulas ou nanoemulsões proporcionou um aumento na fotoestabilidade da rutina	Almeida <i>et al.</i> , 2010.
Nanocápsulas	Propionato de clobetasol	Lâmpada UVA 30 W	Ordem zero: NC-PLA Primeira ordem: NC-PLGA	A nanoencapsulação do propionato de clobetasol em nanocápsulas de PLA e PLGA permitiu melhorar a fotoestabilidade frente a radiação UVA	Fontana <i>et al.</i> , 2010.
Nanocápsulas	Tretinoína	Lâmpada UVC 30 W e Lâmpada UVA 30 W	Ordem zero	A fotoproteção do fármaco pelas nanocápsulas foi maior frente a radiação UVA do que a radiação UVC	Ourique <i>et al.</i> , 2010.

5. MATERIAIS MICROESTRUTURADOS

Micropartículas são partículas sólidas, com dimensões da ordem de 1 a 1000 μm até alguns milímetros (Figura 4). Podem ser classificadas de acordo com a constituição da matriz em microesferas poliméricas onde o fármaco pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à rede tridimensional formada pelo polímero e em microcápsulas (sistemas reservatórios) onde o fármaco encontra-se encapsulado na forma sólida, líquida ou gasosa, separado do meio externo por uma membrana polimérica (Silva-Júnior, 2005). Micropartículas lipídicas consistem em um núcleo sólido, estabilizado por uma camada de tensoativos na superfície. Seus componentes são fisiologicamente compatíveis e biodegradáveis, proporcionando excelente tolerabilidade *in vivo* (Scalia e Mezzena, 2009^a). De maneira similar, entretanto com outra nomenclatura, as lipoesferas consistem em um núcleo sólido de gordura estabilizado por uma camada de tensoativos na superfície (Tursilli *et al.*, 2006).

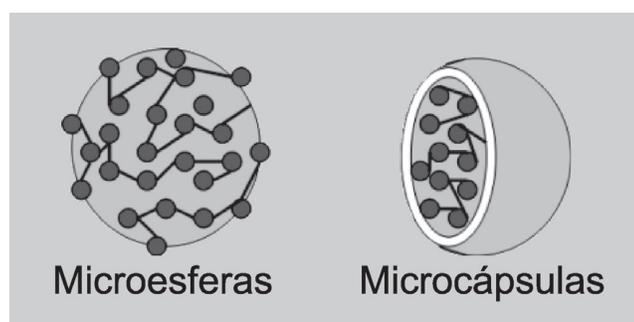


Figura 4. Esquema ilustrativo diferenciando os tipos de micropartículas: microesferas e microcápsulas (Fonte: Pimentel *et al.*, 2007).

A fotoestabilidade do amlodipino em microesferas foi avaliada por Ragno e colaboradores em 2003. As microesferas foram preparadas utilizando polímero etilcelulose e amlodipino dissolvidos em diclorometano, o álcool polivinil foi adicionado a solução homogênea sob agitação contínua a temperatura ambiente. O diclorometano foi evaporado da solução e as microesferas foram obtidas após lavagem com água. As microesferas foram coletadas por filtração através de papel e secas sob vácuo por 24 horas.

Os estudos de fotodegradação foram realizados utilizando a técnica previamente descrita neste trabalho por Ragno e colaboradores (2003) para lipossomas. As amostras foram analisadas por espectrofotometria dissolvendo as microesferas em etanol. As microesferas demonstraram uma excelente fotoestabilidade apresentando concentração residual do amlodipino de 97% após irradiação de 11,34 kJ/m^2 . A taxa de inativação do fármaco após 9

horas de exposição à irradiação foi de apenas 3 %. O tempo de meia-vida do amlodipino incorporado em microesferas foi 178,57 vezes maior do que amlodipino em solução etanólica, demonstrando que o amlodipino pode ser fortemente protegido da luz por sua incorporação em microesferas.

Em 2006, Scalia e colaboradores, estudaram a incorporação de um complexo entre hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) e um protetor solar, a avobenzona (butil metoxidibenzoilmetano) em lipoesferas e analisaram a influência deste sistema na fotoestabilidade do protetor solar. O complexo foi preparado na razão molar de 1:2 de avobenzona e HP- β -CD. Por conseguinte, as lipoesferas foram preparadas através da emulsificação da tristearina (3,6 g) fundida a 70 °C com 2 % (p/v) com fosfatidilcolina de soja hidrogenada em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,4; 60 mL). Avobenzona livre e o seu complexo com HP- β -CD foram adicionados a fase lipídica fundida. Após agitação das amostras (10000 rpm, por 3 minutos; Ultra-Turrax T25, IKA-Werk, Satufen, Alemanha), a emulsão água em óleo foi rapidamente resfriada sob agitação magnética até temperatura inferior a 20 °C. As lipoesferas formadas foram recuperadas por centrifugação (5000 rpm por 5 minutos), lavadas com água, filtradas e liofilizadas.

Os experimentos de fotodegradação foram realizados para emulsões óleo em água contendo avobenzona (0,2 % p/p) microencapsulada ou a quantidade equivalente do complexo entre avobenzona e HP- β -CD encapsulado em micropartículas lipídicas. Emulsões contendo apenas avobenzona (0,2 % p/p) ou complexado com HP- β -CD também foram analisados. O procedimento utilizado foi similar ao descrito anteriormente (Tursilli *et al.*, 2006). Entretanto, a energia UV aplicada foi equivalente a dose eritematosa mínima (DEM) de 10.

Na formulação contendo avobenzona livre, $28,9 \pm 3,4$ % do conteúdo de fotoprotetor foi degradado durante a irradiação. A decomposição fotoinduzida da avobenzona foi reduzida para $17,3 \pm 3,9$ % após a complexação com HP- β -CD. Além disso, uma redução na extensão de fotodegradação da avobenzona para $15,8 \pm 3,6$ % e $15,2 \pm 2,8$ % foi alcançada em emulsões contendo avobenzona encapsulado em lipoesferas e na sua forma complexada HP- β -CD/ avobenzona em lipopartículas, respectivamente. Os resultados descritos nesse estudo demonstram que a microencapsulação do complexo HP- β -CD/ avobenzona aumenta a fotoestabilidade do agente fotoprotetor em relação ao complexo livre e em relação as lipoesferas com avobenzona livre.

O efeito das lipoesferas na fotodegradação da melatonina foi estudado por Tursilli e colaboradores, em 2006. As lipoesferas contendo melatonina foram preparadas utilizando

tristearina ou tripalmitina como material lipídico e fosfatidilcolina hidrogenada ou polissorbato 60 como emulsificante. As lipoesferas foram preparadas por adição à quente (70 °C) da solução tampão fosfato (pH 7,4; 60 mL) contendo 2 % (p/v) de tensoativo sobre à tristearina e tripalmitina (3,6 g) fundidas a 70 °C sob agitação (10000 rpm, durante 3 minutos; Ultra-Turrax. T25 Basic IKA-Werk, Staufen, Alemanha). A emulsão óleo em água obtida foi rapidamente resfriada sob agitação magnética até uma temperatura inferior a 20 °C. As lipoesferas formadas foram recuperadas por centrifugação (5000 rpm, durante 5 minutos), lavadas com água e liofilizadas. As lipoesferas contendo melatonina foram obtidas dissolvendo a melatonina (1,1 g) em 1 mL de etanol e adicionando a solução na fase lipídica fundida. Micropartículas preparadas com polissorbato 60 não foram utilizadas no estudo de fotodegradação, devido a sua baixa eficiência de encapsulação, que limita a sua aplicabilidade para produtos dermatológicos.

Experimentos de fotólise foram realizados com emulsões óleo em água preparadas com 0,5 % (p/p) de melatonina livre ou microencapsulada em lipoesferas. Uma porção da emulsão em teste (100 mg) foi transferida para o fundo de um béquer e então irradiada por 2 horas com simulador solar (Suntest CPS+; Atlas, Linsengericht, Alemanha) equipado com lâmpada de xenônio. Um filtro óptico foi utilizado para excluir os comprimentos de onda menores de 290 nm e um filtro infravermelho para evitar os efeitos térmicos. A emissão do simulador solar foi mantida em 500 W/m². Após o intervalo de exposição, o béquer foi removido, o seu conteúdo quantitativamente transferido para um balão volumétrico de 10 mL com etanol e a amostra foi dispersa sob sonicação. A concentração de melatonina foi quantificada por CLAE. Todas as amostras foram protegidas da luz antes e após a irradiação.

Nas formulações contendo melatonina livre, 19,6 % do conteúdo do fármaco foi degradado durante a irradiação. A decomposição fotoinduzida da melatonina não foi significativamente afetada quando microencapsulada nas lipoesferas preparadas com tripalmitina e fosfatidilcolina (18,9 % de fotodegradação). Por outro lado, uma notável redução na fotodegradação (5,6 %) foi obtida na emulsão contendo melatonina incorporada nas partículas preparadas com tristearina e fosfatidilcolina. Os resultados descritos neste estudo indicam que a microencapsulação da melatonina em lipoesferas representam uma estratégia eficaz para melhorar a fotoestabilidade do fármaco.

Durante os experimentos de fotoestabilidade, a energia aplicada foi equivalente a dose eritematosa mínima (DEM) de 20, o que é considerado a emissão solar diária. As análises de ressonância nuclear magnética demonstraram que a fotodegradação da melatonina revelou a

presença do seu principal produto de degradação, o N-[3-(2-formilamino-5-metoxil-fenil)-3-oxo propil] acetamida, assim como os estudos anteriores.

Tursilli e colaboradores, em 2007, estudaram a incorporação do agente fotoprotetor octil-dimetil aminobenzoato (ODAB) em micropartículas lipídicas sólidas com o objetivo de melhorar a fotoestabilidade deste protetor solar. As micropartículas lipídicas sólidas foram preparadas pela técnica de dispersão por fusão utilizando behenato de glicerila como material lipídico e poloxamer 188 como emulsificante. Na preparação das micropartículas foram adicionados 90 mL de água quente contendo 0,1 ou 1 % (p/p) de polaxamer 188 em behenato de glicerila fundida (5 g) utilizando Ultra T25 à 85 °C. A emulsão óleo em água resultante foi rapidamente resfriada em temperatura ambiente sem agitação e as micropartículas formadas foram recuperadas por decantação e liofilizadas. As micropartículas lipídicas sólidas contendo ODAB foram obtidas dissolvendo os filtros UV (1,0 g) na fase lipídica fundida antes da formação da emulsão.

A partir disto, hidrogéis contendo ODAB (0,2 % p/p) livre ou microencapsulado foram preparados por dispersão, utilizando carbopol 980 (1,5 %). ODAB livre (solubilizado em etanol) ou as micropartículas contendo o filtro solar (dispersas em água) foram adicionadas ao hidrogel previamente formado. Emulsões óleo em água contendo 1 % p/p de ODAB ou quantidade equivalente de ODAB microencapsulado foram também preparadas. ODAB foi dissolvido na fase oleosa, enquanto que as micropartículas foram dispersas em água e adicionadas durante a fase de arrefecimento da preparação da emulsão a 40°C.

Experimentos de fotólise foram realizados nas micropartículas lipídicas sólidas antes e depois da sua incorporação nas emulsões ou hidrogéis. As micropartículas lipídicas (20 mg) foram espalhadas no fundo de um béquer, enquanto as emulsões e hidrogéis foram distribuídas em uma camada mais uniforme possível em uma fita TransporeTM (3 M, Health Care, Neuss, Alemanha) formando um filme de 2 mg/cm². As amostras foram irradiadas por 1 hora através de um simulador solar (Suntest CPS+, Atlas, Lisengericht, Alemanha). A emissão do simulador solar foi mantida a 700 W/m². A energia UV aplicada foi equivalente a dose eritematosa mínima (DEM) de 20. Após o intervalo de exposição, o béquer contendo as micropartículas foi removido, seu conteúdo quantitativamente transferido para um balão volumétrico de 20 mL com etanol e sonicado por 15 minutos. A fita TransporeTM foi cortada em pedaços pequenos e o agente fotoprotetor foi extraído com metanol:etanol (25:75, v/v), sob sonicação (15 minutos). As amostras obtidas foram filtradas e analisadas por CLAE. O grau de fotodegradação foi avaliado medindo o percentual do agente fotoprotetor recuperado em relação às amostras não irradiadas. Com o objetivo de estudar o efeito da partícula lipídica

da matriz na reatividade fotoquímica do ODAB, também foram realizados experimentos de fotólise em amostras sólidas, incluindo ODAB livre e ODAB microencapsulado.

Nas amostras sólidas, a encapsulação do ODAB em micropartículas lipídicas sólidas levou a uma acentuada redução na decomposição fotoinduzida do filtro solar, quando comparado com ODAB não encapsulado. O percentual de fotodegradação foi de $43,8 \pm 6,4$ % para ODAB livre e $20,0 \pm 5,6$ % para micropartículas lipídicas sólidas. Este efeito foi explicado pelo espalhamento da radiação UV pela matriz das micropartículas. Para as formulações que utilizaram como veículo emulsão O/A, nenhuma diferença estatística no grau de fotodecomposição do ODAB foi observada entre as emulsões contendo ODAB livre ou encapsulado em micropartículas. Isso indica que o efeito fotoestabilizador das micropartículas lipídicas sólidas após a introdução delas no veículo emulsão não ocorre. Esse fenômeno pode ser atribuído à liberação da ODAB das micropartículas para a fase oleosa, o que minimiza a fração do filtro solar protegido pela matriz da partícula.

Entretanto, para as formulações que utilizaram hidrogéis como veículo, o percentual de fotodegradação do filtro solar foi de $87,4 \pm 3,6$ % para a formulação contendo o filtro na sua forma livre e $59,1 \pm 5,5$ % para o hidrogel contendo ODAB microencapsulado. Esses resultados demonstram que a redução da decomposição fotoinduzida do filtro UV realizado pelas micropartículas lipídicas sólidas foi mantida no hidrogel como veículo. Os resultados relatados neste estudo indicam que a encapsulação do ODAB em micropartículas lipídicas representam uma estratégia adequada para aumentar a fotoestabilidade do ODAB.

Em 2008, Raffin e colaboradores, estudaram a fotoestabilidade do pantoprazol sob a radiação UVC e determinaram a sua cinética de degradação. O pantoprazol foi incorporado em micropartículas preparadas pelo método de emulsificação evaporação do solvente, sendo que uma formulação (MP1) foi preparada utilizando o polímero Eudragit S100[®] e outra (MP2) utilizando a mistura de Eudragit S100[®] e poli(ϵ -caprolactona) (PCL). Além disso, micropartículas também foram preparadas através da secagem por aspersão utilizando Eudragit S100[®] (MP3) ou hidroxipropilmetil celulose (MP4) como polímeros. Uma solução metanólica de pantoprazol foi utilizada como controle.

Para os estudos de fotodegradação foi utilizada como fonte de luz uma lâmpada UV fluorescente modelo Ecolume[®], 30 W, emitindo radiação a 254 nm. O efeito da luz foi estudado expondo soluções metanólicas de pantoprazol em cubetas de quartzo de 1 cm. As amostras foram posicionadas horizontalmente para fornecer o máximo de área de exposição à fonte de luz. A irradiação foi realizada em diferentes intervalos de tempo (0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos). Após o intervalo da exposição, cada amostra foi diluída com tampão fosfato

pH 7,4 e acetonitrila (65:35, v/v) até concentração final de 10 µg/mL e analisadas por CLAE. A concentração de pantoprazol na solução metanólica reduziu para 1,7 % após 120 min de exposição e a cinética de degradação pode ser descrita como cinética de ordem zero (tempo de meia-vida de 35,11 min) nas condições experimentais deste estudo.

As micropartículas (MP1, MP2, MP3 e MP4) foram expostas a radiação UV em vidros de relógio durante 10 dias. Amostras foram coletadas após 1, 4, 6, 8 e 10 dias. Após a extração do pantoprazol com uma mistura de NaOH 0,05 M e acetonitrila 1:1 (v/v), as amostras foram analisadas por CLAE. A concentração do pantoprazol em seu estado sólido foi reduzida muito vagarosamente comparada com a sua solução metanólica. Após 10 dias, o conteúdo do fármaco foi reduzido para 27 %. A fotodegradação do pantoprazol no estado sólido também seguiu uma cinética de ordem zero (tempo de meia-vida de degradação de 6,5 dias).

Após 10 dias de exposição, a concentração de pantoprazol nas micropartículas produzidas com Eudragit S100[®] (MP1) foi de $55,7 \pm 1,5\%$ e na MP3 foi de $44,2 \pm 3,1\%$. O pantoprazol encapsulado com Eudragit S100[®] e PCL obteve resultados diferentes. A adição da PCL às micropartículas (MP2) causou uma redução da fotoestabilidade do pantoprazol, sendo que a quantidade final de pantoprazol após 10 dias de exposição à radiação UV foi de $32,9 \pm 0,3\%$. A adição de Methocel F4 M[®] (hidroxipropil metilcelulose) as micropartículas preparadas por secagem por aspersão também levou a uma redução da fotoestabilidade do pantoprazol. Após 10 dias de irradiação, somente $12,6 \pm 0,3\%$ do fármaco permaneceu estável nas micropartículas MP4. Em relação ao modelo de fotodegradação do pantoprazol encapsulado, as micropartículas MP1, MP2, MP3 e MP4 seguiram uma cinética de segunda ordem.

O pantoprazol demonstrou ser muito instável frente a radiação UVC. Em solução metanólica, a fotodegradação seguiu uma cinética de ordem zero e o pantoprazol foi completamente degradado após 120 min. Na forma sólida, a concentração do pantoprazol foi reduzida para 27 % após 10 dias de exposição à luz. As micropartículas com pantoprazol incorporado mostraram diferentes efeitos na fotoestabilidade do pantoprazol. As micropartículas preparadas somente com Eudragit S100[®] demonstraram um aumento na fotoestabilidade do fármaco. Após 10 dias de irradiação, 56 e 44% do fármaco permaneceu estável quando encapsulado pelo método de emulsificação evaporação do solvente e spray drying, respectivamente. O uso de polímeros combinados (Eudragit[®] S100 e PCL) não melhorou a fotoestabilidade do pantoprazol.

Em 2009, Albertini e colaboradores prepararam micropartículas de sólido com grande quantidade de um agente fotoprotetor, o butil metoxidibenzoilmetano (avobenzona), com o objetivo de reduzir a sua fotoinstabilidade. As micropartículas lipídicas foram preparadas pelo método clássico dispersão por fusão. Micropartículas também foram preparadas por liofilização (*spray congealing*), utilizando um sistema equipado com bico pneumático. Os estudos de fotodegradação foram realizados em emulsões óleo em água contendo avobenzona (3 %, p/p) livre em presença de micropartículas de sólido sem fármaco ou com equivalente quantidade de filtro UVA microencapsulado. Porções de 76-80 mg das emulsões em estudo foram espalhadas homogeneamente em uma fita Transpore™ (3M Health Care, Neuss, Alemanha) formando um filme 4 mg/cm². As amostras obtidas foram irradiadas por 1 hora com um simulador solar (Suntest CPS+, Atlas, Lisengericht, Alemanha) equipada com lâmpada de xenônio, filtro óptico para excluir comprimentos de ondas menores que 290 nm e um filtro infravermelho para evitar efeitos térmicos. A emissão do simulador solar foi mantida a 750 W/m². A energia UV aplicada foi equivalente a dose eritematosa mínima (DEM) de 10, que é considerada a emissão solar da metade de um dia perto ao Equador. Após o intervalo de exposição, a fita Transpore™ foi cortada em pedaços pequenos e extraída com etanol (8 mL) sob sonicação (5 min). As amostras obtidas foram filtradas e analisadas por CLAE.

Os estudos de fotodegradação foram realizados em emulsões contendo avobenzona livre na presença de micropartículas lipídicas sem avobenzona e com emulsões contendo avobenzona incorporada em micropartículas lipídicas, preparadas por dois diferentes métodos: Dispersão por fusão e “*spray congealing*”. A formulação contendo avobenzona livre apresentou 38,0 ± 3,6 % do agente fotoprotetor degradado durante a irradiação. A fotodegradação da avobenzona foi menor (32,1 ± 4,3 %) na formulação contendo o filtro incorporado em micropartículas lipídicas preparadas pelo método de dispersão por fusão. Entretanto, uma redução mais acentuada da fotodegradação da avobenzona (15,4 ± 4,1 %) foi alcançada pelas micropartículas lipídicas preparadas por liofilização. Os resultados obtidos indicam que a incorporação da avobenzona em micropartículas lipídicas diminui a instabilidade do filtro UVA sob a luz solar. Além disso, a técnica *spray congealing* proporcionou preparar micropartículas lipídicas contendo avobenzona com um maior potencial de fotoproteção do que as partículas preparadas com o método tradicional.

Com o objetivo de reduzir a fotoinstabilidade da avobenzona, o filtro UVA mais utilizado, Scalia e Mezzena, em 2009^a, estudaram a sua incorporação em micropartículas lipídicas e também sua incorporação juntamente com filtro UVB octocrileno (OCR), que atua também como fotoestabilizador. Micropartículas lipídicas foram preparadas por método da

emulsificação à quente, sendo estas liofilizadas no final da preparação. A fotólise foi realizada em emulsões óleo em água contendo avobenzona (1 % p/p) e OCR (0,7 % p/p) microencapsulados. Cremes O/A contendo quantidades equivalentes de avobenzona e OCR livres juntamente com micropartículas lipídicas sem o ativo ou avobenzona microencapsulada e com OCR não encapsulado também foram avaliados. O filtro metoxicinamato de octila (OMC) (1% p/p) foi adicionado em cada formulação, já que o OMC é o filtro UVB mais utilizado mundialmente e a sua associação com avobenzona domina o ranking do mercado de protetores solares.

Frações do creme em estudo (35-45 mg) foram espalhadas homogeneamente em fita Transpore™ (3M Health Care, Neuss, Alemanha) formando um filme de 2 mg/cm². As amostras obtidas foram irradiadas por 1 hora com simulador solar (Suntest CPS+, Atlas, Linsengericht, Alemanha) equipado com lâmpada de xenônio, um filtro óptico para excluir os comprimentos de onda menores que 290 nm e um filtro infravermelho para evitar efeitos térmicos. A emissão do simulador solar foi mantida em 750 W/m². A energia UV aplicada foi equivalente a dose eritematosa mínima (DEM) de 10, que é considerada emissão solar da metade de um dia perto ao equador, conforme anteriormente comentado. Após o intervalo de exposição, a fita Transpore™ foi cortada em pedaços pequenos e extraída com etanol (5 mL) por sonicação (5 minutos) e as amostras analisadas por CLAE.

De acordo com este estudo, o comportamento fotoquímico da avobenzona (filtro UVA) microencapsulado foi analisado na presença de filtros que absorvem UVB, OCR e OMC, utilizando a emulsão óleo em água como veículo. Esse sistema reproduz a condição predominante da atual aplicação de produtos fotoprotetores, já que a avobenzona é associada com OMC na maioria das preparações comerciais de protetores solares e moléculas de estabilização, como OCR, são frequentemente incluídas com o objetivo de reduzir a fotoinstabilidade dessa combinação.

Com o objetivo de verificar ao efeito de estabilização do OCR, estudos de fotólise preliminares foram realizados em emulsões contendo combinação de filtros UV não encapsulados avobenzona/OMC e avobenzona/OMC/OCR. O percentual de fotodegradação da avobenzona foi de 32,6 ± 2,3 % na formulação contendo o filtro UVA em conjunto com OMC e 28,6 ± 2,4 % na emulsão que incluiu também OCR. As diferenças entre os valores foram significativas. Estes resultados indicam, de acordo com estudos anteriores, que a presença do OCR preserva o filtro UVA avobenzona da fotodegradação, embora que parcialmente. Esse efeito estabilizador do OCR foi também exercido para o filtro UVB OMC, sendo que a extensão de decomposição do OMC diminuiu de 62,1 ± 1,7 % para 53,8 ± 3,1 %.

Posteriormente, os estudos de fotodegradação foram realizados em emulsões contendo avobenzona encapsulada em micropartículas lipídicas em conjunto com OCR e OMC livres. A quantidade de avobenzona após irradiação foi de 74,1 %, correspondendo a decomposição de $26,0 \% \pm 2,5$. Os resultados indicam uma menor fotodegradação do filtro UVA comparados com as formulações contendo avobenzona, OMC e OCR livres (perda de avobenzona de 28,6 %), sendo a diferença estatisticamente significativa. Já os estudos realizados em emulsões com avobenzona e OCR incorporados em micropartículas lipídicas mostraram uma redução mais acentuada na fotodegradação do filtro UVA de $21,5 \% \pm 2,1$.

Esses resultados indicam que a co-encapsulação de OCR reforçou significativamente a fotoestabilidade da avobenzona encapsulada em micropartículas lipídicas comparado aos sistemas baseados na clássica combinação de BMDBM e OCR livres ou avobenzona encapsulada em micropartículas lipídicas com OCR não encapsulado. Esse fenômeno pode ser atribuído a uma interação mais eficiente do fotoestabilizante OCR com as moléculas de avobenzona no núcleo da partícula lipídica, sem interferências dos excipientes da emulsão. Os resultados descritos neste estudo indicam que a co-encapsulação de avobenzona com OCR em micropartículas lipídicas é mais eficiente em reforçar a fotoestabilidade do filtro UVA comparado a presença única de avobenzona encapsulada em micropartículas lipídicas.

Ainda em 2009^b, Scalia e Mezzena, investigaram a incorporação de avobenzona em micropartículas lipídicas sólidas juntas com um fotoestabilizador, 4-metilbenzilideno cânfora (MBC) com o objetivo de melhorar a fotoestabilidade da avobenzona. A fotólise foi realizada nas emulsões contendo 1 % (p/p) de avobenzona e MCB em conjunto com micropartículas lipídicas sem ativo, avobenzona e MCB encapsulados nas micropartículas e somente avobenzona encapsulada nas micropartículas também foi avaliado. Os experimentos de fotólise foram realizados de maneira similar aos anteriormente descritos (Scalia e Mezzena, 2009^a). Na formulação contendo avobenzona e MBC não encapsulados, a extensão da decomposição fotoinduzida do filtro UVA foi de 33,8 %. O percentual de fotodegradação do filtro UVA diminuiu para 25,3 % na formulação contendo avobenzona encapsulada em micropartículas e MBC não encapsulado. Uma redução estatisticamente significativa da fotodegradação do protetor solar para 16,9 % foi obtida pela co-encapsulação de avobenzona e MBC nas micropartículas. Estes resultados demonstram que a co-encapsulação do estabilizador MBC aumenta a fotoestabilidade da avobenzona encapsulada em micropartículas lipídicas sólidas. Os resultados reforçam os achados anteriores do mesmo grupo (Scalia e Mezzena, 2009^a) quanto à eficiência da co-encapsulação.

A Tabela 4 apresenta um resumo dos trabalhos comentados a respeito dos estudos de fotoestabilidade de fármacos e substâncias encapsuladas em micropartículas.

Tabela 4. Estudos de fotoestabilidade de substâncias encapsuladas em micropartículas.

Tipo de partícula	Fármaco ou ativo	Tipo de Irradiação	Resultado	Referência
Microesferas	Amlodipino	Lâmpada de Xenônio UVA 350 W/m ²	Tempo de meia-vida de amlodipino incorporado em microesferas foi 178.57 vezes maior do que amlodipino em solução etanólica.	Ragno <i>et al.</i> , 2003.
Lipoesferas	Avobenzona (Butil metoxidibenzoilmetano) e hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD)	Lâmpada de Xenônio 500 W/m ²	Microencapsulação do complexo HP- β -CD/avobenzona aumentou a fotoestabilidade do agente fotoprotetor	Scalia <i>et al.</i> , 2006.
Micropartículas lipídicas	Melatonina	Lâmpada de Xenônio 500 W/m ²	Melhora na fotoestabilidade do fármaco microencapsulado	Tursilli <i>et al.</i> , 2006.
Micropartículas lipídicas sólidas	Octil-dimetil aminobenzoato (ODAB)	Lâmpada de Xenônio 700 W/m ²	Encapsulação do ODAB em micropartículas lipídicas aumentou a sua fotoestabilidade	Tursilli <i>et al.</i> , 2007.
Micropartículas	Pantoprazol	Lâmpada UV 30 W	As micropartículas preparadas somente com Eudragit S100 [®] demonstraram uma maior fotoestabilidade do fármaco quando encapsulado pelo método de emulsificação evaporação do solvente e spray drying	Raffin <i>et al.</i> , 2008.
Micropartículas de sólido	Avobenzona (Butil metoxidibenzoilmetano)	Lâmpada de Xenônio 750 W/m ²	Avobenzona incorporada em micropartículas lipídicas pelo método de dispersão por fusão apresentou menor fotoproteção, enquanto que nas micropartículas preparadas por liofilização	Albertini <i>et al.</i> , 2009.

			a fotoproteção foi mais acentuada	
Micropartículas lipídicas	Avobenzona (Butil metoxidibenzoilmetano)	Lâmpada de Xenônio 750 W/m ²	A co-encapsulação de OCR reforçou significativamente a fotoestabilidade da avobenzona encapsulada em micropartículas lipídicas	Scalia e Mezzena, 2009 ^a .
Micropartículas lipídicas sólidas	Avobenzona (Butil metoxidibenzoilmetano)	Lâmpada de Xenônio 500 W/m ²	A co-encapsulação do estabilizador MBC aumentou a fotoestabilidade da avobenzona encapsulada em micropartículas lipídicas sólidas	Scalia e Mezzena, 2009 ^b .

6. CONCLUSÃO

As técnicas de micro e nanoencapsulação descritas neste trabalho de revisão apresentam potencial para se obter um aumento da fotoestabilidade de fármacos e ativos fotolábeis empregando essa abordagem tecnológica. Entretanto, em alguns casos, como por exemplo para alguns tipo de nanopartículas de lipídeo sólido e lipossomas essa propriedade não foi observada, o que foi atribuído pelos autores aos componentes da formulação. Adicionalmente, o que se observa nesses estudos é que não há uma padronização das técnicas empregadas para esses estudos de fotoestabilidade, principalmente quanto ao tipo de radiação utilizada, formas de exposição e análises dos perfis obtidos. A maioria dos experimentos não apresentam o cálculo dos tempos de meia-vida obtidos para os fármacos. Essas questões tornam muitas vezes difícil a comparação dos resultados entre diferentes estudos. Apesar disto, observa-se que há um grande potencial para novos estudos, buscando uma melhor compreensão dos principais fatores envolvidos e também a manutenção destas vantagens após a incorporação destes sistemas micro e nanoencapsulados em formas farmacêuticas finais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albertini, B.; Mezzena, M.; Passerini, N.; Rodriguez, L.; Scalia, S. Evaluation of spray congealing as technique for the preparation of highly loaded solid lipid microparticles containing the sunscreen agent, avobenzone. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 98, nº 8, 2009.

Almeida, J.S.; Jezur, L.; Fontana, M.C.; Paese, K.; Silva, C.B.; Pohlmann, A.R.; Guterres, S.S. and Beck R.C.R. Oil-based nanoparticles containing alternative vegetable oils (grape seed oil and almond kernel oil): Preparation and characterization. *Latin American Journal of Pharmacy*, Vol. 28, p. 165-172, 2009.

Almeida, J.S.; Lima, F.; Da Ros, S.; Bulhões, L.O.S.; Carvalho, L.M. and Beck R.C.R. Nanostructured systems containing rutin: *in vitro* antioxidant activity and photostability studies, *Nanoscale Research Letters*, Vol. 5, p. 1603-1610, 2010.

Alves, M. P.; Scarrone, A. L.; Santos, M.; Pohlmann, A. R.; Guterres, S. S. Human skin penetration and distribution of nimesulide from hydrophilic gels containing nanocarriers. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 341, p. 215-220, 2007.

Anton, N.; Benoit, J. P.; Saulnier, P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates-a review. *Journal of Controlled Released*, Vol. 128, p. 185-199, 2008.

Attia, I.A.; El-Gizawy, S.A.; Fouda, M.A. and Donia, A. M. Influence of a Niosomal Formulation on the Oral Bioavailability of Acyclovir in Rabbits. *AAPS Pharmaceutical Science Technology*, Vol. 8, nº4, artigo 106, 2007.

Beck, R.C.R.; Pohlmann, A.R.; Benvenuti, E.V.; Dalla Costa, T.; Guterres, S.S. Nanostructure-Coated Diclofenac-Loaded Microparticles: Preparation, Morphological Characterization, *In Vitro* Release and *In Vivo* Gastrointestinal Tolerance. *Journal of Brazilian Chemical Society*, Vol. 16, nº6A, p. 1233-1240, 2005.

Budai, M; Gróf, P.; Zimmer, A.; Pápai, K.; Klebovich, I.; Ludányi, K. UV light induced photodegradation of liposome encapsulated fluoroquinolones: An MS study. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, Vol. 198, p. 268-273, 2008.

Carafa, M.; Santucci, E.; Lucania, G. Lidocaine-loaded non-ionic surfactant vesicles: characterization and *in vitro* permeation studies. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 231, p. 21-32, 2002.

Carafa, M; Marianecchi, C.; Codecà, A.; Squillaci, P.; Scalzo, M.; Cerreto, F.; Santucci, E. Retinyl palmitate-loaded vesicles: influence on vitamin light-induced degradation. *Journal Drug Delivery Science and Technology*, Vol. 15, n° 6, p. 1-6, 2006.

Carafa, M; Marianecchi, C.; Salvatorelli, M.; Di Marzio, L.; Cerreto, F.; Lucania, G.; Santucci, E. Formulations of retinyl palmitate included in solid lipid nanoparticles: characterization and influence on light-induced vitamin degradation. *Journal Drug Delivery Science and Technology*, Vol. 18, p. 119-124, 2008.

Carlotti, M.E.; Sapino, S.; Trotta, M.; Battaglia, L.; Vione, D.; Pelizzetti, E. Photostability and stability over time of retinyl palmitate in na O/W emulsion and in SLN introduced in the emulsion. *Journal of Dispersion and Technology*, Vol. 26, p. 125-138, 2005^a.

Carlotti, M.E.; Sapino, S.; Vione, D.; Pelizzetti, E.; Ugazio, E.; Morel, S. Study on the photostability of octyl-p-methoxy cinnamate in SLN. *Journal of Dispersion and Technology*, Vol. 26, p. 809-816, 2005^b.

Carlotti, M. E.; Sapino, S.; Vione, D.; Minero, C.; Trotta, M.; Gallarate, M. Photostability of octyl-p-methoxy cinnamate in O/W emulsions and in SLNs vehicled in the emulsions. *Journal of Dispersion Science and Technology*, Vol. 28, p. 1034-1043, 2007.

Carlotti, M. E.; Sapino, S.; Peira, E.; Gallarate, M.; Ugazio, E. On the Photodegradation of Dithranol in Different Topical Formulations: Use of SLN to Increase the Stability of the drug. *Journal of Dispersion Science and Technology*, Vol. 30, p. 1517-1524, 2009.

Carvalho, L.M.; Spengler, C.; Garmatz, J.C.; Nascimento, P.C.; Bohrer, D.; Del-Fabro, L.; Radis, G.; Bolli, A.A.; Moro, A.M.; Garcia, S.C.; Rosa, M.B. Determinação voltamétrica de metais em águas e fluidos biológicos empregando mineralização de amostras com radiação ultravioleta. *Química Nova*, Vol. 31, nº6, p. 1336-1342, 2008.

Fontana, M.C.; Coradini, K.; Guterres, S.S.; Pohlmann, A.R. and Beck, R.C.R. Nanoencapsulation as a Way to Control the Release and to Increase the Photostability of Clobetasol Propionate: Influence of the Nanostructured System. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, Vol. 5, p. 254-263, 2009.

Fontana, M.C.; Coradini, K.; Guterres, S.S.; Pohlmann, A.R. and Beck, R.C.R. Nanocapsules prepared from amorphous polyesters: effect on the physicochemical characteristics, drug release, and photostability. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, Vol.10, p. 3091-3099, 2010.

Genchi,G.; Spagnoletta, A.; De Santis, A.; Stefanizzi, L.; Palmieri, L. Purification and characterization of the reconstitutively active citrate carrier from maize mitochondria. *Plant Physiology*, Vol.120, p. 841-847, 1999.

Guterres, S. S.; Alves, M. P.; Pohlmann, A. R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications. *Drug Target Insights*, Vol. 2, p. 147-157, 2007.

Habib. M.J. and Asker A.F. Photostabilization of Riboflavin by Incorporation into Liposomes. *Journal of Parenteral Science and Technology*, Vol. 45, p. 124-127, 1991.

ICH Harmonized Tripartite Guideline, 1996. Photostability Testing of New Drug Substance and Products. Federal Register 62, 27115-27122.

Ioele, G.; Cione, E.; Risoli, A.; Genchi, G. and Ragno, G. Accelerated photostability study of tretinoin and isotretinoin in liposome formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 293, p. 251-260, 2005.

Jee, J.; Lim, S.; Park, J. and Kim, C. Stabilization of all-trans retinol by loading lipophilic antioxidants in solid lipid nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol.63, p.134-139, 2006.

Manconi, M.; Sinico, C.; Valenti, D.; Loy, G.; Fadda, A.M. Niosomes as carriers for tretinoin.I. Preparation and properties. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 234, p. 237-248, 2002.

Manconi, M.; Valenti, D.; Sinico, C.; Lai, F.; Loy, G. and Fadda, A.M. Niosomes as carriers for tretinoin II. Influence of vesicular incorporation on tretinoin photostability. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 260, p. 261-272, 2003.

Mertins, O.; Sebben, M.; Pohlmann, A.R.; Silveira, N.P. Production of soybean phosphatidylcholine-chitosan nanovesicles by reverse phase evaporation: a step by step study. *Chemistry and Physics of Lipids*, Vol. 138, p. 29-37, 2005.

Mora-Huertas, C.E.; Fessi, H.; Elaissari, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 385, p. 113-142, 2010.

Ourique, A.F.; Pohlmann, A.R.; Guterres, S.S. and Beck R.C.R. Tretinoin-loaded nanocapsules: Preparation, physicochemical characterization, and photostability study. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 352, p.1-4, 2008.

Ourique, A.F.; Azoubel, S.; Ferreira, C.V.; Silva, C.B.; Marchiori, M.C.L.; Pohlmann, A.R.; Guterres, S.S. and Beck R.C.R. Lipid-core nanocapsules as a nanomedicine for parenteral administration of tretinoin: development and *in vitro* antitumor activity on human myeloid leukaemia cells. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, Vol. 6, p. 1-10, 2010.

Paese, K.; Jäger, A.; Poletto, F.S.; Pinto, E.F.; Rossi-Bergmann, B.; Pohlmann, A.R. and Guterres, S.S. Semisolid formulation containing a nanoencapsulated sunscreen: effectiveness, *in vitro* photostability and immune response. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, Vol.5, p. 1-7, 2009.

Pardeike, J.; Hommos, A.; Müller, R.H. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 366, p.170-184, 2009.

Pardakthy, A.; Varshosaz, J.; Rouholamini, A. In vitro of polyoxyethylene alkyl ether niosomes for delivery of insulin. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 328, p. 130-141, 2007.

Perugini, P.; Simeoni S.; Scalia, S.; Genta, I.; Modena, T.; Conti, B. and Pavanetto, F. Effect of nanoparticle encapsulation on the photostability of the sunscreen agent, 2-ethylhexyl-*p*-methoxycinnamate. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 246, p. 37-45, 2002.

Pimentel, L. F.; Júnior, A.T.J.; Mosqueira, V.C.F.; Santos-Magalhães, N.S. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, Vol. 43, n°4, out./dez., 2007.

Pohlmann, A. R; Weiss, V.; Mertins, O.; Pesce da Silveira, N.; Guterres, S. S. Spray-dried Indomethacin-Loaded Polyester Nanocapsules and Nanospheres: Development, Stability Evaluation and Nanostructure Models. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol.16, n. 4/5, p. 305-312, 2002.

Raffin, R. P.; Colomé, L.M.; Schapoval, E.E.S.; Pohlmann, A.R.; Guterres, S.S. Increasing sodium pantoprazole photostability by microencapsulation: effect of the polymer and the preparation technique. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol. 69, p. 1014-1018, 2008.

Ragno, G.; Cione, E.; Garofalo, A.; Genchi, G.; Ioele, G.; Risoli, A.; Spagnoletta, A. Design and monitoring of photostability systems for amlodipine dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 265, p. 125-132, 2003.

Ragno, G.; Risoli, A.; Ioele, G.; Cione, E.; De Luca, M. Photostabilization of 1,4-dihydropyridine antihypertensives by incorporation into beta-cyclodextrin and liposomes. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, Vol. 6, p. 2979-2985, 2006.

Scalia, S.; Tursilli, R.; Sala, N.; Iannuccelli, V. Encapsulation in lipospheres of complex between butyl methoxydibenzoylmethane and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 320, p. 79-85, 2006.

Scalia, S. and Mezzena, M. Incorporation in lipid microparticles of the UVA filter, butyl methoxydibenzoylmethane combined with the UVB filter, octocrylene: effect on photostability. *AAPS Pharmaceutical Science Technology*, Vol.10, n° 2, 2009^a.

Scalia, S. and Mezzena, M. Co-loading of a photostabilizer with the sunscreen agent, butyl methoxydibenzoylmethane in solid lipid microparticles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Vol. 35:2, p. 192-198, 2009^b.

Scalzo M.; Santucci E.; Cerreto F., Carafa M. Model lipophilic formulations of Retinyl palmitate: influence of conservative agents on light-induced degradation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 34, p. 921-931, 2004.

Schaffazick, S.R.; Freitas, L.L.; Pohlmann, A.R. and Guterres, S.S. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova*, Vol. 26, n° 5, p. 726-737, 2003.

Shah, K. A., Date, A.A.; Joshi, M.D.; Patravale, V.B. Solid lipid nanoparticles (SNL) of tretinoin: potencial in topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 345, p. 163-171, 2007.

Silva-Júnior, A.A. Micropartículas biodegradáveis para liberação prolongada intraocular de fármacos. 2005, 140f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

Tursilli, R.; Casolari, A.; Iannuccelli, V.; Scalia, S. Enhancement of melatonin photostability by encapsulation in lipospheres. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 40, p. 910-914, 2006.

Tursilli, R.; Piel, G.; Delattre, L.; Scalia, S. Solid lipid microparticles containing the sunscreen agent, octyl-dimethylaminobenzoate: effect of the vehicle. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol. 66, p. 483-487, 2007.

Weiss-Angeli, V.; Poletto, F.S.; Zancan, L.R.; Baldasso, F.; Pohlmann, A.R. and Guterres, S.S. Nanocapsules of Octyl Methoxycinnamate Containing Quercetin Delayed the Photodegradation of Both Components under Ultraviolet A Radiation. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, Vol. 4, p. 80-89, 2008.

Yoshioka, T.; Sternberg, B.; Florence, A.T. Preparation and properties of vesicles (niosomes) of sorbitan monosters (Span 20, 40, 60 and 80) and a sorbitan triester (Span 85). *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 105, p. 1-6, 1994.

Young A.M.; Gregoriadis, G. Photolysis of retinol in liposome and its protection with tocopherol and oxybenzone. *Photochemistry and Photobiology*, Vol. 63, p. 344-352, 1996.