

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

Preparação de sistema nanoestruturado para limpeza da região dos
olhos: uso veterinário

Nicolas lamauti Tivelli

N°USP 10321612

Trabalho de Conclusão do Curso de
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas da Universidade de
São Paulo.

Orientadora:

Profa. Dra. Nádia Araci Bou Chacra

São Paulo

2021

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS	3
RESUMO	4
INTRODUÇÃO	5
Nanoemulsões: considerações gerais	6
Caracterização física das nanoemulsões	7
Tecnologia de preparação das nanoemulsões	8
Desenho experimental	9
Justificativa	10
OBJETIVO	10
MATERIAL E MÉTODO	10
Material	11
Equipamento	11
Método	11
Preparação da nanoemulsão	11
Caracterização física da nanoemulsão	12
Análise estatística	13
RESULTADO E DISCUSSÃO	13
CONCLUSÃO	21
BIBLIOGRAFIA	22
ANEXOS	26

LISTA DE ABREVIATURAS

ABINPET	Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CKC	Cloreto de Cetalcônio
DP	Desvio Padrão
DoE	<i>Design of Experiment</i>
DLS	<i>Diffuse Light Scattering</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HPH	<i>High Pressure Homogenization</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de Confiança
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i>
OR	Óleo de Rícino
PDI	<i>Polydispersity Index</i>
Pol	Poloxamer 407
QbD	<i>Quality by Design</i>

RESUMO

TIVELLI, N.I. Preparação de sistema nanoestruturado para limpeza da região dos olhos: uso veterinário. 2021. no. f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Palavras-chave: Sistema nanoestruturado, Região dos olhos, Nanotecnologia, Uso Veterinário.

INTRODUÇÃO: A população de animais de estimação vem crescendo anualmente. Em 2018, o IBGE contabilizou 139,3 milhões de animais. O mercado de produtos para cuidados desses animais acompanhou esse crescimento. Esse mercado movimentou, em 2019, R\$22,3 bilhões somente no Brasil. Tais números representam mudança na composição de famílias no Brasil. Essa mudança pode ser reflexo da opção das famílias por não ter filhos e criar um pet no lugar. Nesse mercado destaca-se a linha de cuidados com a saúde e a higiene dos pets (Pet care), em especial, a linha de produtos desenvolvida para o cuidado da região dos olhos. A higienização dessa região tem o intuito de evitar infecções, mau cheiro, melhorar a aparência e aumentar a qualidade de vida do animal de estimação. Os produtos convencionais para a limpeza dessa região são geralmente compostos por tensoativos, conservantes e veículo (água). Esses produtos nem sempre alcançam a eficácia prometida. Nesse sentido, a presente proposta refere-se ao desenvolvimento de preparação nanoestruturada visando oferecer maior eficácia e segurança no procedimento de limpeza da região de olhos. Espera-se obter formulação que não irrite os olhos do animal prevenindo infecções e melhorando sua qualidade de vida. **OBJETIVO:** Otimizar e caracterizar nanoemulsão com aplicação veterinária para limpeza da região dos olhos de cães. **MATERIAIS E MÉTODOS:** A preparação nanoestruturada foi obtida pelo método da homogeneização a alta pressão. Adicionaram-se à fase oleosa (óleo de rícino) o tensoativo (cloreto de cetalcônio), óleo essencial de camomila azul e a vitamina E e a fase aquosa foi constituída de água purificada, e o estabilizante (poloxamer 407). Ambas as fases foram aquecidas à temperatura de 80°C. A fase aquosa foi adicionada à fase oleosa e submetida à agitação magnética e em seguida mecânica. A emulsão grosseira formada foi submetida à homogeneização a alta pressão. Para a caracterização física da solução, foram avaliados o potencial zeta, a distribuição do tamanho médio das partículas e o índice de polidispersão. As amostras foram diluídas em água purificada, de modo a otimizar a intensidade do sinal. Os resultados correspondem à média de três determinações para cada característica, sendo utilizado o equipamento Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Malvern, UK). A análise estatística foi feita utilizando-se o software Minitab versão 17 (State College PA, USA).

RESULTADOS: A formulação otimizada foi obtida empregando-se análise estatística visando o menor tamanho de partícula. O tamanho médio de partícula obtido foi de $175,7 \pm 3,9$ nm, índice de polidispersão de $0,276 \pm 0,005$ e potencial zeta de $45,0 \pm 3,5$ mV, maior que 30 mV indicando adequada estabilidade física da preparação.

CONCLUSÃO: O produto final obtido apresentou propriedades físicas adequadas. A abordagem estatística resultou em formulação otimizada baseada no conhecimento adquirido. Futuramente, esses conhecimentos poderão ser utilizados na preparação de produto veterinário inovador.

1. INTRODUÇÃO

A adequada manutenção da higiene de animais contribui para a melhoria da sua qualidade de vida. Tendo em vista a prevenção de complicações de saúde, a higiene apropriada é de fundamental importância. Esse processo pode ser trabalhoso para os donos de pets. Considerando esse trabalho, foram desenvolvidos diversos produtos de higiene e cuidados para animais de estimação em um mercado que demonstra forte tendência de crescimento. Essa tendência refere-se a mudanças de estilo de vida nos últimos anos. A ABINPET (Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação) descreveu o motivo do desenvolvimento deste mercado mesmo em tempos de crise como “o reconhecimento dos benefícios da interação entre humanos e animais, para a saúde de ambos. Os animais de estimação, hoje, são parte da família. A longevidade e o estilo de vida solitário nas grandes cidades fazem dos pets parte importante na vida das pessoas”.

“As mudanças do perfil das famílias brasileiras têm grande impacto nessa relação entre humanos e pets. Houve um aumento de casais que optam por não ter filhos, ou somente um filho, e buscam a companhia de um pet. Como membro da família, o animal vive cada vez mais dentro de casa, especialmente em apartamentos. Tal fato deve-se à verticalização dos centros urbanos, fazendo com que os donos aumentem os cuidados com a saúde do animal”.

Em 2019, a indústria brasileira de produtos para animais de estimação faturou R\$22,3 bilhões e o mercado de cuidados com a saúde e higiene (pet care) representou 8,5% desse total. Em 2018, considerando-se apenas produtos para cuidado dos olhos de pets, o mercado global foi avaliado em US\$140 milhões e se projeta crescimento para 209 milhões até o final de 2025 (ABINPET, 2021). Ainda em 2018, no Brasil, o IBGE registrou 139,3 milhões de animais de estimação, sendo que, destes, 54,2 e 23,9 milhões eram apenas cães e gatos, respectivamente. Esse número é significativamente maior que o de crianças (pessoas com até 12 anos), que são 35,5 milhões de uma população de 208 milhões.

O crescimento desse mercado representa aumento no número de donos que buscam oferecer a melhor qualidade de vida para os seus animais pela utilização de produtos eficazes e produzidos conforme as regulamentações vigentes de BPF.

Dentro do mercado de produtos para pet care, aqueles que têm como foco a higienização da região dos olhos visam: evitar infecções, mau cheiro e melhorar as complicações na aparência decorrentes da epífora e cromodacriorreia. A epífora é um sintoma caracterizado pela perda ou alteração na produção de lágrimas devido a processo inflamatório ou obstrução do canal lacrimal. A cromodacriorreia é o aparecimento de manchas avermelhadas ao redor dos olhos, que é mais evidente em raças com pelagem branca. Existem diversos mecanismos propostos para o aparecimento dessas manchas, dentre eles o excesso de umidade na região devido a problemas anatômicos dos dutos lacrimais e a presença de compostos similares à lactoferrina (ligadas a moléculas de Fe). Esse composto confere cor amarronzada ao pelo. Adicionalmente, as bactérias, cuja presença é promovida pela umidade, também secretam compostos que causam a mancha (SLATTER, 2008).

Nesse crescente mercado não foi observado qualquer produto que apresente formulação nanoestruturada (pesquisa dos produtos no mercado apresentada na Tabela Suplementar 1). Segundo a FDA, nanopartículas entre 1 e 100 nm “devem apresentar diferentes propriedades químicas, físicas ou biológicas em comparação a suas contrapartes em maior escala” (FDA, 2014). Os benefícios do uso de nanotecnologia devem ser avaliados caso a caso. O tamanho da partícula, o potencial zeta e o índice de polidispersão são atributos críticos de qualidade no desenvolvimento de uma nanoestrutura.

1.1. Nanoemulsões: considerações gerais

O uso de nanoemulsões tem sido impulsionado na área de sistema de liberação de fármacos (*drug delivery*) e em cosméticos ao oferecer atributos desejáveis como melhorar a absorção de fármacos com baixa solubilidade em água, baixa biodisponibilidade, melhorar a aparência, dar um aspecto agradável e maior segurança ao produto. Emulsões são sistemas instáveis compostos por duas fases imiscíveis: fase oleosa, fase aquosa. O tensoativo interage com essas duas fases formando a emulsão (YUKUYAMA *et al.*, 2015). O tipo de emulsão é definido pela quantidade de cada fase dispersa no sistema e pela característica do tensoativo (hidrofílico e lipofílico). No caso da maior parcela da emulsão ser composta pela fase aquosa e a menor parte, composta pela fase oleosa, o sistema será emulsão óleo em água (o/a). No caso inverso, tem-se uma emulsão de água em óleo (a/o). Apesar

de existirem outros tipos de emulsões com aplicações diferentes, as formas mais utilizadas comercialmente são as emulsões *o/a* e *a/o*. (MCCLEMENTS *et al.*, 2018).

As nanoemulsões diferem das emulsões quanto a sua estabilidade. A desestabilização de emulsões ocorre pela tendência natural de se reduzir a força interfacial entre as duas fases insolúveis. Essa redução ocorre devido ao contato entre partículas promovido por forças de cisalhamento e gravitacionais por meio de duas formas: floculação seguida de coalescência e ostwald ripening (aumento gradual das partículas por meio de agregação). Para garantir a estabilidade do produto e preservar suas características utilizam-se excipientes na formulação que previnem o contato entre as gotículas. Os dois principais fenômenos que permitem essa separação são a repulsão eletrostática e estérica (MCCLEMENTS, 2012).

A FDA não possui definição regulatória para nanotecnologia, porém o *National Nanotechnology Initiative Program* define a nanotecnologia como "O conhecimento e controle da matéria em dimensões de aproximadamente 1 e 100nm que possibilita aplicações inovadoras" (National Nanotechnology Initiative, 2014).

Apesar disso, a FDA disponibilizou um guia que orienta se um produto envolve ou não a aplicação de nanotecnologia. O produto (final ou excipiente) deve ter sido desenvolvido de maneira intencional na escala nanométrica. O produto obtido deve apresentar pelo menos uma dimensão interna ou externa na faixa de 1 nm a 100 nm. Além disso, as nanopartículas devem apresentar diferentes propriedades químicas, físicas ou biológicas em comparação a suas contrapartes em maior escala, incluindo dimensões de até 1000 nm, que sejam atribuídas a escala nanométrica (FDA, 2014).

1.2. Caracterização física das nanoemulsões

Para a caracterização física dos nanocarreadores lipídicos avaliam-se o potencial zeta, o tamanho médio das partículas e o índice de polidispersão (medida da amplitude da distribuição do tamanho das partículas) (ZHANG *et al.*, 2010).

O potencial zeta é uma propriedade física presente em qualquer partícula em suspensão. Em sistemas coloidais como emulsões, as partículas dispersas no meio tendem a se agregar e aumentar de tamanho por meio de diversos fenômenos físicos, e a forma de se evitar essa agregação ocorre por meio das repulsões estérica e eletrostática. Na superfície de uma partícula existem duas camadas de

cargas, uma fortemente ligada ao núcleo (camada de Stern) e outra mais difusa que se separa facilmente da partícula. Quando uma partícula se move, as cargas se movem com a partícula enquanto outras se separam da camada difusa. A força necessária para remover as partículas da camada difusa é o potencial zeta, que é medido em mV. É considerado de maneira geral que potenciais acima de +30 mV ou -30mV permitem a estabilidade dos sistemas nanoestruturados (Malvern Instruments, 2017).

O índice de polidispersão (PDI) é uma medida da heterogeneidade das partículas em suspensão. O índice avalia basicamente a distribuição do tamanho das partículas e pode variar de 0 (perfeitamente homogêneas em relação à distribuição do tamanho da partícula) a 1 (extremamente dispersas com populações variadas de tamanho de partícula). Valor de 0,2 é considerado adequado para o índice de polidispersão e é classificado pela FDA como um atributo crítico de qualidade (DANAEI *et al.*, 2018). O índice de polidispersão é dado pela fórmula:

$$PDI = \left(\frac{\sigma^2}{d} \right)$$

No qual PDI é igual ao σ (desvio padrão) ao quadrado dividido por d (tamanho médio da partícula/ *Z-Avg.*). (RAVAL *et al.*, 2019).

O diâmetro hidrodinâmico médio ou *Z-average* é a média observada do tamanho de uma partícula em um sistema coloidal. O diâmetro hidrodinâmico é observado por meio do espalhamento de luz dinâmico (*Diffuse Light Scattering - DLS*) que mensura a variação de espalhamento do laser, causado pelas partículas, incidido em sistema coloidal no tempo. O espalhamento é ligado ao movimento Browniano, no qual partículas menores tendem a espalhar o laser mais frequentemente no sistema em comparação com partículas maiores (RAVAL *et al.*, 2019). O sistema possui um índice teórico de difusão linear que se torna curvo quando se considera o PDI (variação do tamanho das partículas). A média harmonizada dos valores obtidos resulta no *Z-average*, que indica de maneira consistente o tamanho da partícula (Malvern Instruments, 2014).

1.3. Tecnologia de preparação das nanoemulsões

Os métodos utilizados para a preparação de nanoemulsões podem ser por alta ou baixa energia. Os métodos por alta energia são utilizados com maior frequência. Dentre esses métodos, a homogeneização a alta pressão (*High Pressure Homogenization* - HPH) apresenta como vantagem a possibilidade de escalonamento. A HPH é considerada método de emulsificação de alta energia por utilizar energia mecânica visando aumentar de maneira dramática a superfície de contato das partículas e permite controlar diretamente o tamanho da partícula final ao alterar parâmetros como a quantidade de energia empregada, os excipientes utilizados e suas concentrações (ANTON *et al.*, 2008). Esse método apresenta vantagens em relação a outras técnicas de preparação de nanopartículas por permitir controlar diretamente a característica final do produto, tempo de produção reduzido e possibilidade de produção em escala industrial (MASIERO *et al.*, 2021).

1.4. Desenho experimental

O desenvolvimento convencional de fórmulas farmacêuticas e cosméticas é bem intenso e custoso. A qualidade do produto deve ser garantida em todos os momentos do ciclo de vida do mesmo, e pela rota “tradicional” isso é feito por meio de controles das matérias-primas, controles de processo da manufatura, durante o processo e controles do produto final. A *Quality by Design* (QbD) foi introduzida pelas agências regulatórias americana e europeia. Os principais guias desenvolvidos são o Q8 - “*Pharmaceutical Development*”; Q9 - “*Quality Risk Management*” e Q10 - “*Pharmaceutical Quality System*” publicados pelo *International Conference on Harmonization* (ICH) que explicaram os princípios de QbD (AMASYA *et al.*, 2019).

O guia Q8 de 2009 apresenta como objetivo o desenvolvimento de produtos e processos por meio de base-racional científica empregando ferramentas estatísticas e de qualidade, além de análise de risco. O espaço de design é definido como a “interação e combinação multidimensional de diversas variáveis e parâmetros de processo que demonstram garantia de qualidade do produto”. Essas informações permitem prever o comportamento esperado do produto. Uma vez aprovado, mudanças feitas dentro do espaço de design não exigem aprovação regulatória adicional. O desenho de experimento (*Design of Experiment* - DoE) é um método

sistemático que pode gerar o espaço de design que permite maior entendimento do produto e processo (LOURENÇO, *et al.*, 2015).

Para executar o desenho do experimento, deve-se obter informações de como o fármaco, os excipientes e o processo de manufatura afetam as características de qualidade final do produto. Esses parâmetros críticos de qualidade devem ser investigados e determinados de forma a construir um conhecimento específico para garantir sempre a qualidade do produto. O presente trabalho, apesar de não contemplar todos os requisitos para o desenvolvimento completo de um produto, utilizou ferramenta estatística visando iniciar o caminho para o desenvolvimento de um produto sob a ótica de QbD.

1.5. Justificativa

As diferentes propriedades químicas, físicas ou biológicas que a nanopartícula apresenta parecem promissoras para o futuro da prática veterinária. Uma formulação nanoestruturada para limpeza da região dos olhos tem, como potencial, maior eficácia e segurança no tratamento de complicações relacionadas à higiene. Tal fato deve-se à maior razão superfície/volume devido ao tamanho das partículas em escala nanométrica. Assim, essas apresentam potencial para promover limpeza mais efetiva. Os produtos encontrados no mercado são compostos geralmente de tensoativos, conservantes e um veículo (água). A expectativa dos donos de pets com referência a esses produtos nem sempre é atendida.

A partir desse cenário é proposto o desenvolvimento de sistema nanoestruturado para limpeza de região de olhos para uso veterinário. Espera-se obter formulação que previna infecções e melhore a qualidade de vida do animal.

2. OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo desenvolver, otimizar e caracterizar nanoemulsão com aplicação veterinária para limpeza da região dos olhos de cães.

Será proposto desenho experimental com o objetivo de entender a influência dos componentes da formulação no tamanho médio das partículas.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Material

As matérias-primas utilizadas são: óleo de rícino (Sigma-Aldrich, EUA), Kolliphor P 407 micro (BASF laboratories, EUA), *Benzyltrimethylhexadecylammonium chloride* (Sigma-Aldrich, EUA), ácido bórico (Sigma-Aldrich, EUA), Vitamina E (BASF laboratories, EUA) e óleo essencial de camomila germânica (LASZLO, Brasil).

3.2. Equipamento

Os equipamentos utilizados foram: balança analítica (AG200 - GEHAKA), agitador magnético e manta de aquecimento (IKA RCT basic), agitador mecânico (T-25 Ultra-Turrax®), homogeneizador a alta pressão (NanoDeBee), analisador de tamanho de partículas, potencial zeta e índice de polidispersão Zetasizer Nano ZS90 (Malvern instruments, Malvern, UK).

3.3. Método

3.3.1. Preparação da nanoemulsão

Para estudar a influência dos excipientes nos atributos do produto foi proposto um desenho experimental (DoE) com dois fatores e dois níveis. Foi estabelecido que os parâmetros avaliados seriam a concentração de óleo de rícino (OR) e de poloxamer 407 (Pol) utilizados nos níveis mínimo (-1) e máximo (+1), 2 e 5% (m/m) e 1 e 2% (m/m), respectivamente. As amostras apresentadas pelo desenho experimental 2^2 determinam 4 pontos experimentais com mais 2 pontos centrais (fórmulas 5 e 6), sendo necessário 6 fórmulas ao todo. As fórmulas estão apresentadas na Tabela 1:

Tabela 1: Concentrações com a porcentagem de m/m das fórmulas 1 a 6. O peso restante foi completado com água purificada.

Fórmula	Óleo de Ricino (% m/m)	Poloxamer 407 (% m/m)	Cetalkonium Chloride (% m/m)	Ácido Bórico (% m/m)
1	2	1	0,05	3
2	2	2	0,05	3
3	5	1	0,05	3
4	5	2	0,05	3
5	3,5	1,5	0,05	3
6	3,5	1,5	0,05	3

A fase oleosa consistiu do óleo de rícino, cloreto de cetalcônio. A fase aquosa foi composta pelo poloxamer 407, ácido bórico e pela água purificada. As fases foram aquecidas a 80°C por meio de mantas de aquecimento. O ácido bórico foi adicionado após o preparo das nanoemulsões.

A fase oleosa foi pesada empregando béquer de 100mL e colocada sob agitação a 400 rpm. Após homogeneização, o óleo essencial de camomila foi adicionado por último até se tornar homogêneo novamente. A fase aquosa foi pesada em um béquer de 100mL e colocada sob agitação a 400 rpm. Após a solubilização completa das duas fases, essas foram misturadas, ainda sob agitação magnética, por 3 min a 600 rpm. Após esse período, a solução foi submetida ao agitador mecânico por 5 min a 13.400 rpm para formar uma emulsão grosseira. A emulsão grosseira formada foi submetida à homogeneização a alta pressão por 5 ciclos (5 minutos) e à pressão de 10.000 PSI (690 bars) (SAKULKHU *et al.*, 2007).

Nas fórmulas otimizadas foram adicionados vitamina E (0,3% m/m) e óleo essencial de camomila (0,1% m/m), de maneira exploratória, visando futuro produto com maior valor agregado.

3.3.2. Caracterização física da nanoemulsão

Para a caracterização física das nanoemulsões, foram avaliados o potencial zeta, a distribuição do tamanho médio das partículas (*Z-avg.*) e o índice de polidispersão (PDI). As amostras foram diluídas em água purificada, de modo a otimizar a intensidade do sinal. A diluição utilizada foi de 50 vezes para cada 1% de óleo de rícino utilizado (por exemplo 100x para 2% e 250x para 5%). Os resultados correspondem à média de três determinações para cada característica, sendo

utilizado o equipamento Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Malvern, UK).

3.4. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software Minitab versão 17.

Para o desenho experimental foi analisada a influência dos parâmetros estudados no tamanho médio de partícula (*Z-Avg*). O *Z-Avg* foi selecionado como parâmetro a ser otimizado, já que o tamanho das partículas são diretamente influenciados pela variação da quantidade dos excipientes enquanto que o PDI e potencial zeta descrevem respectivamente parâmetros dependentes do processo de preparo das amostras e uma característica intrínseca dos excipientes utilizados.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

O óleo de rícino (*Castor Oil*) é um triglicerídeo de cadeia longa com 18 carbonos. Possui diversas aplicações e na indústria cosmética é utilizado como um excipiente devido à sua característica de possuir estado semi-sólido em temperatura ambiente permitindo melhor estabilidade do produto. Foi utilizado em aplicações farmacêuticas na formulação de nanoestruturas lipídicas para aumentar a biodisponibilidade de fármacos pouco lipossolúveis (SINGH *et al.*, 2019). A toxicidade do óleo de rícino foi avaliada em diversas vias de exposição (incluindo ocular) em modelos *in vivo* e não foi observado nenhum tipo de reação grave. Apenas em dosagens muito altas ou em peles já sensibilizadas houve sinais de irritação. O seu uso não apresentou risco à saúde humana ou animal (Fruijtier-Pölloth *et al.*, 2005) e o seu uso nas formulações avaliadas está em quantidade reduzida (5% m/m) podendo ser utilizado de maneira segura.

O poloxamer 407 também conhecido pela marca *Pluronic F-127*® (BASF laboratories, EUA) é um copolímero não-iônico composto de blocos de óxido de etileno e óxido de propileno arrançados na seguinte fórmula geral: $\text{HO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_b(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_a\text{H}$. Ele contém 101 unidades de óxido de etileno (a) para 56 unidades de óxido de propileno (b) e é usado em formulações farmacêuticas como agente tensoativo/estabilizante (ROWE *et al.*, 2005). A toxicidade de poloxamer 407 foi avaliada em diversas vias de exposição (incluindo ocular) diferentes em modelos *in vivo* e não foi observado nenhum tipo de reação grave.

Apenas em dosagens muito altas houve sinais de irritação. O seu uso não apresentou risco à saúde humana ou animal sendo considerado material essencialmente inerte (Cosmetic Ingredient Review, 2008) e o seu uso na formulação proposta está em quantidade adequada (2% m/m) podendo ser utilizado de maneira segura. Além disso, é reportado na literatura a capacidade dos tensoativos de reduzir a formação de biofilmes ao impedir a adesão de microrganismos em superfícies (PERCIVAL *et al.*, 2018).

Benzyltrimethylhexadecylammonium chloride (cloreto de cetalcônio / CKC) é um amônio quaternária e tensoativo catiônico contendo propriedades de estabilização de emulsões óleo em água (o/a) e conservantes ao desestabilizar a parede celular de micro-organismos. Ele possui grupo alquila de 16 carbonos e é comumente utilizado em produtos oftalmológicos comerciais (TORRES-LUNA *et al.*, 2019). CKC tem sido usado com sucesso no desenvolvimento de emulsões o/a nanoestruturadas com um bom perfil de segurança (baixa toxicidade) e efeitos benéficos ao promover uma melhor proteção e restauração da córnea. Foi demonstrado que o CKC tem uma ótima estabilidade na porção oleosa da nanopartícula devido à sua alta lipofilicidade limitando a quantidade de CKC livre na parte aquosa, que é responsável pela toxicidade do produto. Graças a essa elevada afinidade foi possível usar quantidade reduzida de CKC quando comparado a outros amônios quaternários de cadeias menores (DAULL *et al.*, 2013).

O ácido bórico é um ácido inorgânico com fórmula H_3BO_3 . Esse composto é usado como conservante de alimento, “amaciante” de água, neutralizante, estabilizador e tampão. A sua toxicidade é apenas significativa em soluções concentradas (99%) e para as soluções comercialmente disponíveis com concentrações inferiores a <5% seria necessária a ingestão de grandes quantidades para se demonstrar um risco à saúde (SIEGEL *et al.*, 1986). Portanto, o ácido bórico utilizado na nanoemulsão na concentração proposta de 3% m/m não oferece risco ao usuário enquanto mantém suas propriedades antimicrobianas.

A Vitamina E possui 8 moléculas lipofílicas sintetizadas por plantas com atividade antioxidante, dentre elas a α -, β -, γ - e δ -tocoferol e os tocotrienols correspondentes. Essas moléculas têm uma notória capacidade antioxidante ao capturar radicais livres por possuir uma reação 1000 vezes mais favorável do que a reação dos radicais com ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (MUSTACICH *et al.*, 2007). O uso da vitamina E tem ganhado bastante atenção no

mundo cosmético e farmacológico devido a sua atividade fotoprotetora e antioxidante (SAEZ *et al.*, 2018). O seu uso em formulações nanoestruturadas como antioxidante e conservante de óleos vegetais tem sido explorado pela comunidade científica e demonstrado maior efetividade quando comparado a formulações convencionais (MASIERO *et al.*, 2021). O emprego da vitamina E na formulação tem como objetivo aumentar a estabilidade do produto ao proteger a fase oleosa composta pelo óleo de rícino de degradações comuns aos ácidos graxos.

O óleo essencial de camomila é extraído de duas principais espécies, a germânica e a romana. Ambas possuem diferentes quantidades de óleos voláteis (0,24-2,4%); flavonóides incluindo apigenina, apigetrina, apigenina-7-O-glucosídeo e seus derivados acetilados, quercetina, rutina, luteolina, patuletina e quercimeritrina, sesquiterpenos ((-) - α -bisabolol óxidos A, B e C, cadineno, calameno, chamazuleno, matricina, espatulenol e outros); ácidos vegetais (anísico, cafeico, síngico e vanílico) e ácidos graxos (linoleico, oleico e outros; taninos (catequina e gálico); polissacarídeos solúveis em água; colina; aminoácidos; e outros (KHAN *et al.*, 2010). O óleo possui diversas propriedades como a anti-inflamatória, antimicrobiana, antifúngica (SINGH *et al.*, 2011), entre outras foram estudadas. O seu uso em cosméticos, principalmente em tinturas para cabelos loiros, tem como intenção proporcionar uma dupla função de dar um cheiro agradável ao dono do animal de estimação e melhorar a coloração da pelagem escurecida pela cromodaciorreia.

As formulações obtidas estão apresentadas na Figura 1:

Figura 1: Formulações obtidas para o DoE (1 a 6), verificação (9 e 10) e o produto final (11).



A caracterização física das nanomulsões foi determinada 3 dias após a preparação das amostras 1 a 6. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados obtidos para as formulações 1 a 6 para PDI, Z-Avg. e Potencial Zeta. DP =

Desvio Padrão.

Fórmula	Índice de Polidispersão \pm DP	Diâmetro da partícula (nm) \pm DP	Potencial Zeta (mV) \pm DP
1	0,206 \pm 0,010	154,7 \pm 0,1	51,9 \pm 1,2
2	0,363 \pm 0,019	120,0 \pm 1,4	44,6 \pm 1,3
3	0,181 \pm 0,013	235,0 \pm 2,1	46,1 \pm 0,6
4	0,228 \pm 0,025	185,7 \pm 1,1	42,6 \pm 0,6
5	0,221 \pm 0,009	179,9 \pm 3,5	44,7 \pm 0,8
6	0,225 \pm 0,005	184,6 \pm 1,5	46,1 \pm 0,3

A partir das formulações preparadas obteve-se o seguinte modelo matemático:

$$Z - Avg. = 151,7 + 24,33 * (OR) - 42,00 * (Pol) + 8,40 Ct Pt$$

OR= Óleo de Rícino / Pol = Poloxamer 407

Foi observado durante a análise que as concentrações de OR e Pol não influenciam um ao outro (não existe interação significativa $p < 0,05$) e seus efeitos são individuais e lineares.

Não foi observado *lack of fit* significativo, ou seja, a equação representa bem os valores obtidos e o R^2 e R^2 (preditivo) foram de 99,11% e 87,63%, respectivamente. Isso demonstra que a equação obtida representa bem os dados e possui uma capacidade satisfatória de prever a característica de uma dada formulação no universo observado. (GUO *et al.*, 2012).

Para a verificação da equação foram testadas mais 4 formulações: 7, 8, 9 e 10. As formulações estão apresentadas na Tabela 3. Nas preparações 7 e 8 foram adicionados o óleo essencial de camomila e a vitamina E. As preparações 9 e 10 foram preparadas com os mesmos componentes da Tabela 1. A adição da vitamina E e do óleo essencial foi efetuada visando avaliar preliminarmente a influência desses componentes no tamanho médio das partículas. Futuramente serão realizados novos experimentos com o objetivo de avaliar essa influência empregando base racional científica.

Tabela 3: Concentrações com a porcentagem de m/m da formulação 7 a 10. O peso restante foi completado com água purificada. A tabela também mostra os resultados obtidos para as formulações 7 a 10 para PDI, Z-Avg. e Potencial Zeta. DP = Desvio Padrão.

Fórmula	Óleo de Rícino (% m/m)	Poloxamer 407 (% m/m)	Cetalkonium Chloride (% m/m)	Óleo de Camomila (% m/m)	Ácido Bórico (% m/m)	Índice de Polidispersão ± DP	Diâmetro da partícula (nm) ± DP	Potencial Zeta (mV) ± DP
7	3	1	0,05	0,01	3	0,195 ± 0,021	202,5 ± 1,9	47,2 ± 0,4
8	4	2	0,05	0,01	3	0,232 ± 0,021	196,4 ± 3,8	47,4 ± 0,8
9	3	1	0,05	-	3	0,197 ± 0,036	199,3 ± 1,1	51,1 ± 0,8
10	4	2	0,05	-	3	0,248 ± 0,004	176,7 ± 2,0	49,5 ± 0,8

Foram considerados apenas os tamanhos de partícula obtidos com as fórmulas 9 e 10, uma vez que a adição do óleo essencial de camomila nas formulações 7 e 8 significou que houve uma mudança e o modelo não representou o produto avaliado no desenho experimental. Os resultados observados foram contemplados pela ferramenta de predição do minitab ao informar a quantidade de excipiente utilizado com IC 95%. Os valores observados e previstos estão apresentados na Tabela 4:

Tabela 4: A tabela também mostra os resultados obtidos para as formulações 9 e 10 para Z-Avg. obtido e o esperado pelo modelo com IC de 95%. DP = Desvio Padrão.

Fórmula	Diâmetro da partícula (nm) obtido ± DP	Diâmetro da partícula (nm) esperado (IC 95%)
9	199,3 ± 1,1	164,9 - 200,4
10	176,7 ± 2,0	147,3 - 182,7

Com o modelo testado, prevendo as características do produto, foi utilizada a função de *response optimizer* do minitab com o objetivo de realizar um estudo preliminar de formulação com o menor tamanho médio de partícula (*Z-avg.*). Essa última formulação com os excipientes propostos foi preparada conforme a seguir (% m/m):

Óleo de Rícino.....	2,00%
Cloreto de Cetalcônio.....	0,05%
Poloxamer 407.....	2,00%
Ácido Bórico.....	3,00%
Vitamina E.....	0,60%
Óleo essencial de Camomila.....	0,10%
Água Purificada.....	q.s.p. 50g

Os parâmetros obtidos com essa formulação estão apresentados na Tabela 5:

Tabela 5: A tabela mostra os resultados obtidos para a formulação final para índice de polidispersão (PDI), tamanho médio de partículas (Z-Avg.) e potencial zeta. DP = Desvio Padrão.

Fórmula	Índice de Polidispersão \pm DP	Diâmetro da partícula (nm) \pm DP	Potencial Zeta (mV) \pm DP
Final	0,276 \pm 0,005	175,7 \pm 3,9	45,0 \pm 3,5

Foi obtida nanoemulsão com potencial aplicação para a limpeza da região dos olhos de cachorros empregando abordagem estatística. A formulação obtida apresentou tamanho médio de partícula (Z-Avg.) de 175,7 \pm 3,9 nm, PDI de 0,276 \pm 0,005 e um potencial zeta de +45,0 \pm 3,5 mV (Tabela 5).

O tamanho das nanopartículas é afetado por variações da composição da formulação, ou seja, tipo e concentração dos tensoativos, lipídios saturados, lipídios insaturados, e os métodos e condições de preparação (MÜLLER et al., 2002). O tamanho de partícula é um atributo essencial para maior eficácia do produto ao promover contato dos nanocarreadores, e quando aplicável, do ativo por ele encapsulado, o que resultará em produto com maior eficácia. (WREN et al., 2020).

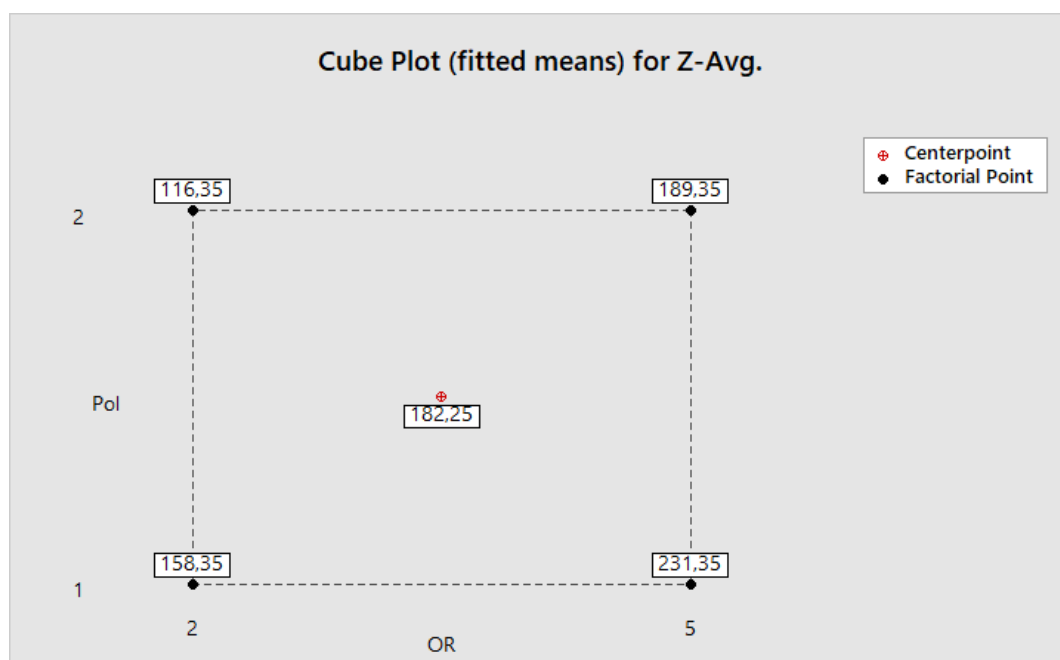
Com referência à fórmula 2 (Tabela 1) que possuía quantidades similares de excipientes, o tamanho observado é maior provavelmente devido à adição de vitamina E e óleo essencial de camomila na fase oleosa na nanoemulsão (ANTON et al., 2008).

Foi avaliado nas formulações o efeito da adição do ácido bórico na formulação após a formação da nanoemulsão. Era esperado que o ácido bórico interagisse eletrostaticamente na superfície da partícula alterando o potencial zeta. Porém, a mudança observada para esses valores foi, em média, de apenas 1,4 mV (Tabela suplementar 2) e provavelmente o ácido bórico está livre na suspensão e não na superfície das nanopartículas.

O espaço de design obtido pelo desenho experimental pode ser representado por gráfico quadrado no qual são representados os extremos de respostas observadas para Z-Avg. (Figura 2). Esse espaço representa o universo estudado que pode prever um novo valor informado com 87,63% (R^2 -preditivo) de probabilidade. Os pontos centrais foram dados como uma média dos dois valores de Z-Avg. observados e tem como função validar a variação do modelo testado (GUO et

al., 2012).

Figura 2: *Cube plot* que representa os valores obtidos para Z-Avg. com as fórmulas 1 a 6. Os pontos centrais 5 e 6 foram apresentados como uma média.

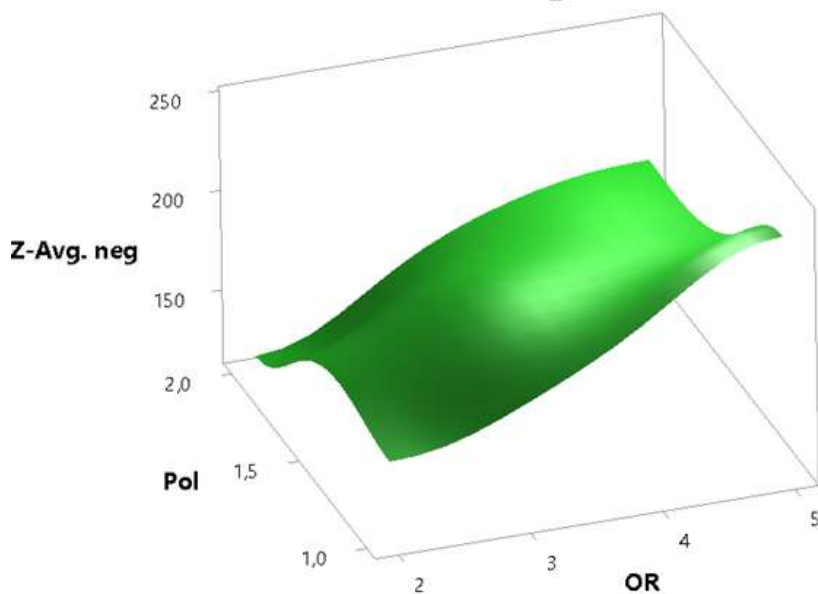


Por meio do *response optimizer* do Minitab 17, foi possível obter uma formulação que obtivesse o menor tamanho médio de partícula (Z-Avg.), uma vez que o tamanho da partícula é crucial para a ação da formulação nanoestruturada.

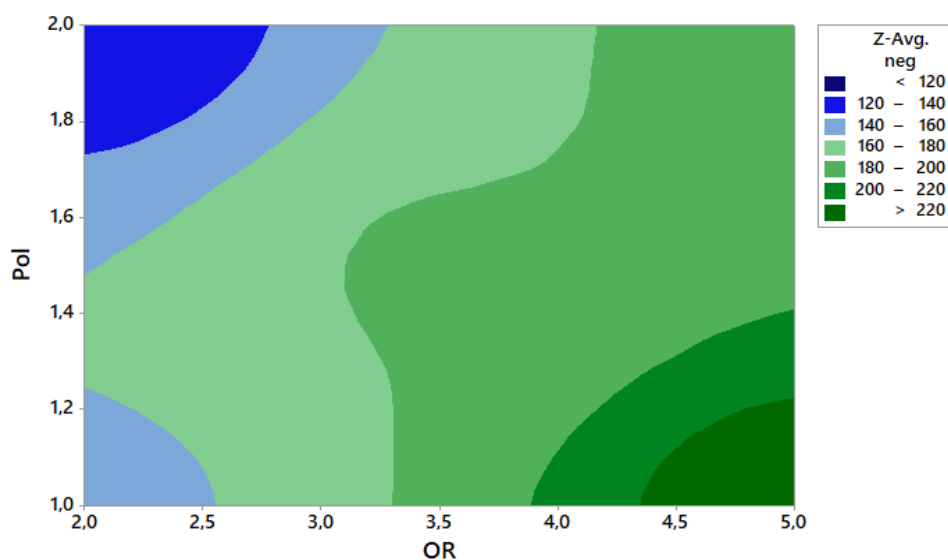
É possível ver o efeito das concentrações de óleo de rícino e poloxamer 407 no gráfico de superfície de resposta e de contorno (Figura 3).

Figura 3: *Surface* e *contour plot* representando a variação do Z-Avg. em relação à concentração de excipiente utilizado nas soluções 1 a 6.

Surface Plot of Z-Avg. vs Pol; OR



Contour Plot of Z-Avg. vs Pol; OR



Pode-se verificar que quantidade menor de óleo de rícino e quantidade maior de tensoativo resultaram em formulação com menor tamanho de partícula (Figura 3). De maneira geral, as características obtidas para a formulação final (11) foram satisfatórias de acordo com os critérios de qualidade e faixas estabelecidas na literatura (Malvern Instruments, 2017; DANAEI *et al.*, 2018; WREN *et al.*, 2020).

O uso do homogeneizador a alta pressão (HPH) foi escolhido apesar de uma possível perda de funcionalidade do óleo essencial (TUREK *et al.*, 2013) devido às temperaturas elevadas do processo. Em compensação, as vantagens com o uso do HPH são: o tamanho de partícula mais uniforme (controlado pelo número de ciclos e

pressão), o tempo de processamento reduzido (MASIERO *et al.*, 2021) e a possibilidade de se controlar de maneira direta as características finais do produto, variando a quantidade de excipientes, sem o uso de solventes orgânicos (ANTON *et al.*, 2008).

O espaço de design permitiu revelar as interações entre os componentes da fórmula. De maneira adicional, a formulação final (11) foi preparada como estudo preliminar visando avaliar a influência da adição do óleo de camomila e da vitamina E que são excipientes que promoverão maior valor agregado ao produto. Foi observado aumento do tamanho da partícula devido ao aumento da fase oleosa, redução de potencial zeta e aumento do índice de polidispersão nessa formulação. Será necessário avaliar futuramente a influência desses novos componentes nas características do produto final e quais etapas do processo de preparação afetam a homogeneidade das partículas (PDI).

5. CONCLUSÃO

No presente trabalho, nanoemulsões foram preparadas visando definir um espaço de design prevendo o tamanho de partículas em função das variáveis independentes (concentração do óleo de rícino e de poloxamer 407). O produto final obtido apresentou tamanho médio de partícula de $175,7 \pm 3,9$ nm, distribuição unimodal e índice de polidispersão de $0,276 \pm 0,005$. Quanto ao potencial zeta, as fórmulas apresentaram valor superior a +30 mV, indicando adequada estabilidade física do sistema.

Pode-se concluir que o emprego de abordagem estatística permitiu maior conhecimento do produto. A formulação obtida e o conhecimento adquirido podem ser utilizados, futuramente, na preparação de produto veterinário inovador.

Aspectos éticos:

Este projeto não envolve riscos à saúde e à segurança de seres humanos e animais. Dessa forma, não é necessária a aprovação prévia do comitê de ética. A autoria das fontes utilizadas será respeitada e devidamente referenciada no formato ABNT.

6. BIBLIOGRAFIA

ABINPET, Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação, Informações gerais do setor Pet. Disponível em: <http://abinpet.org.br/infos_gerais/#:~:text=O%20Brasil%20tem%20a%20segunda.3%20milh%C3%B5es%20de%20outros%20animais>. Acesso em 10/03/2021.

American Botanical Council, c2021, HerbalGram > Issues > Issue #108 > Chamomile. Disponível em: <<https://www.herbalgram.org/resources/herbalgram/issues/108/table-of-contents/hg108-herbpro-chamomile/>>. Acesso em 05/09/2021.

ANTON, N.; BENOIT, J. P.; SAULNIER, P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates—A review. *Journal of Controlled Release*, v. 128, i. 3, p. 185-199, 2008.

AMASYA, G.; AKSU, B.; BADILLI, U.; ONAY-BESIKCI, A.; TARIMCI, N. QbD guided early pharmaceutical development study: Production of lipid nanoparticles by high pressure homogenization for skin cancer treatment. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 563, p. 110-121, 30 Maio 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517319302480?via%3Dihub>. Acesso em: 24 set. 2021.

DANAEI, M.; DEGHANKHOLD, M.; ATAEI, S.; HASANZADEH, D. F.; JAVANMARD, R.; DOKHANI, A.; KHORASANI, S.; MOZAFARI, M. R. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics*. v. 10, i. 2, p. 57, 2018.

DAULL, P.; LALLEMAND, F.; GARRIGUE, J. S. Benefits of cetalkonium chloride cationic oil-in-water nanoemulsions for topical ophthalmic drug delivery, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 66, i. 4, p. 531–541, 2014.

DUMORTIER, G.; GROSSIORD, J. L.; AGNELY, F.; CHAUMEIL, J. C. A Review of Poloxamer 407 Pharmaceutical and Pharmacological Characteristics. *Pharmaceutical Research*, v. 23, i. 12, p. 2709–2728, 2006.

ETHERIDGE, Michael L. et al. The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, v. 9, i. 1, p. 1-14, 2013.

FDA, Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology. Junho de 2014. Disponível em: <<https://www.fda.gov/media/88423/download>> . Acesso em 22/03/2021.

FRUIJTIER-PÖLLOTH, C. Safety assessment on polyethylene glycols (PEGs) and their derivatives as used in cosmetic products. *Toxicology*, v. 214, i. 1-2, p. 1–38, 2005.

Guidance for industry: Q8(R2) pharmaceutical development. Rockville, MD: U.S. Dept. of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug

Evaluation and Research. 2009.

GUO, H.; METTAS, A. Design of Experiments and Data Analysis. 2012 Reliability and Maintainability Symposium, January, 2012.

HALL, J. B.; DOBROVOLSKAIA, M. A.; PATRI, A. K.; MCNEIL, S. E. Characterization of nanoparticles for therapeutics. *Nanomedicine (London)*, v. 2, No. 6, p. 789-803, 2007.

SAMER, C. J.; SCHORK, J. The role of high shear in continuous miniemulsion polymerization. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. v. 38, p. 1801–1807, 1999.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo demográfico, 2018.

KHAN, I. A.; ABOURASHED, E. A. *Leung's Encyclopedia of Common Natural Ingredients*. 3rd ed. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, Inc., 2010.

LOURENÇO, F. R.; FRANCISCO, F. L.; FERREIRA, M. R. S.; ANDREOLI, T. J.; LÖBENBERG, R.; BOU-CHACRA, N. Design Space Approach for Preservative System Optimization of an Anti-Aging Eye Fluid Emulsion. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*. v. 18, i.3, p. 551–561, 2015.

Malvern Instruments. Zeta Potential An introduction in 30 min. Technical Note, MRK654-01. Setembro de 2017.

Malvern Instruments. Frequently Asked Questions - What is the Z-Average?. Junho de 2014. Disponível em: <<https://www.materials-talks.com/wp-content/uploads/2014/07/FAQ-What-is-z-averag e.pdf>>. Acesso em 27/10/2021.

Market Research Vision. Global Pet Eye Care Products Market Insights, Forecast to 2025. 30 de Setembro de 2019. Disponível em: <<https://www.marketresearchvision.com/reports/193164/pet-eye-care-products-mark et>>. Acesso em 08/03/2021.

MASIERO, J.F.; BARBOSA, E.J.; MACEDO, L.D.O.; DE SOUZA, A.; YUKUYAMA, M.N.; ARANTES, G.J.; BOU-CHACRA, N.A. Vegetable oils in pharmaceutical and cosmetic lipid-based nanocarriers preparations. *Industrial Crops and Products*. v. 170, 113838, 2021.

MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter*, Issue 6, p. 1719-1729, 2012.

MCCLEMENTS, D. J.; JAFARI, S. M. Chapter 1 - General Aspects of Nanoemulsions and Their Formulation. *Nanoemulsions*, Academic Press, p. 3-20, 2018.

MÜLLER, R.H.; RADTKEB, M.; WISSING, S.A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructurd lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.54, p.131-155, 2002.

MUSTACICH, D. J.; BRUNO, R. S.; TRABER, M. G. Vitamin E. *Vitamins & Hormones*, v. 76, p. 1–21, 2007.

National Nanotechnology Initiative, Strategic Plan. p. 1, 2014. Disponível em: <https://www.nano.gov/sites/default/files/pub_resource/2014_nni_strategic_plan.pdf>

Acesso em 04 de Novembro de 2021.

NEGI, J. S. Characterization and Biology of Nanomaterials for Drug Delivery. Chapter 6: Nanolipid Materials for Drug Delivery Systems: A Comprehensive Review. p.137–163, 2019.

PATHAK, K.; PATTNAIK, S. Methods in Pharmacology and Toxicology: Methods for Stability Testing of Pharmaceuticals. Chapter 13: Stability Testing Parameters and Issues for Nanotechnology-Based Drug Products. Ed. Humana Press, v. 1, p. 293-305, 2018.

PERCIVAL, S. L.; CHEN, R.; MAYER, D.; SALISBURY, A. M. Mode of action of poloxamer-based surfactants in wound care and efficacy on biofilms. International Wound Journal. v. 15, i. 5, p. 749-755. 2018.

PERCIVAL, S. L.; MAYER, D.; MALONE, M.; SWANSON, T., GIBSON, D.; SCHULTZ, G. Surfactants and their role in wound cleansing and biofilm management. Journal of Wound Care, v. 26, i.11, p. 680–690, 2017.

RAVAL, N.; MAHESHWARI, R.; KALYANE, D.; YOUNGREN-ORTIZ, S. R.; CHOUGULE, M. B.; TEKADE, R. K. Basic Fundamentals of Drug Delivery || Chapter 10 - Importance of Physicochemical Characterization of Nanoparticles in Pharmaceutical Product Development. Advances in Pharmaceutical Product Development and Research, p. 369–400. 2019

ROWE, R.; SHESKEY, P.; OWEN, S. Pharmaceutical Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5th edn., Pharmaceutical, London UK and American Pharmaceutical Association, Washington, USA, 2005.

SAKULKHU, Usawadee et al. Production and Characterization of Rice bran extract encapsulated in Solid Lipid Nanoparticles for Dermal Delivery. 2007 2nd IEEE International Conference On Nano/micro Engineered And Molecular Systems, [s.l.], p.1020-1023, 2007. IEEE.

SAEZ, V.; DE SOUZA, I. D. L.; MANSUR, C. R. E. Lipid Nanoparticles (SLN & NLC) for delivery of vitamin E: A Comprehensive Review. International Journal of Cosmetic Science, v. 40, i. 2, p. 103-116, 2018.

SCOTT, N. R. Nanoscience in veterinary medicine. Veterinary Research Communications, v.31, i. 1, p. 139–144, 2007.

SLATTER, Dr. D. H. SLATTER'S FUNDAMENTALS OF VETERINARY OPHTHALMOLOGY. Ed. 4, p. 164-165. Missouri, EUA: Saunders Elsevier, 2008.

SIEGEL, E.; WASON, S. Boric Acid Toxicity. Pediatric Clinics of North America, v. 33, i. 2, p. 363–367, 1986.

SINGH, O.; KHANAM, Z.; MISRA, N.; SRIVASTAVA, M. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacognosy Reviews*, v.5, i. 9, p. 82-95, 2011.

SINGH-JOY, S. D.; MCLAIN, V. C. Safety Assessment of Poloxamers 101, 105, 108, 122, 123, 124, 181, 182, 183, 184, 185, 188, 212, 215, 217, 231, 234, 235, 237, 238, 282, 284, 288, 331, 333, 334, 335, 338, 401, 402, 403, and 407, Poloxamer 105 Benzoate, and Poloxamer 182 Dibenzoate as Used in Cosmetics. *International Journal of Toxicology*, v. 27, p. 93–128, 2008.

TORRES-LUNA, C.; HU, N.; TAMMAREDDY, T.; DOMSZY, R.; YANG, J.; WANG, N. S.; YANG, A. Extended delivery of non-steroidal anti-inflammatory drugs through contact lenses loaded with Vitamin E and cationic surfactants. *Contact Lens and Anterior Eye*, v. 42, i. 5, p. 546-552, 2019.

TUREK, C.; STINTZINGM F. C. Stability of Essential Oils: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. v. 12, i. 1, p. 40-53, 2013.

VCA, Eye Discharge (Epiphora) in Dogs. Medical Conditions, Pet Services. Disponível em: [https://vcahospitals.com/know-your-pet/eye-discharge-or-epiphora-in-dogs#:~:text=Some%20of%20the%20causes%20of,\(ectropion\)%2C%20and%20glaucoma.>](https://vcahospitals.com/know-your-pet/eye-discharge-or-epiphora-in-dogs#:~:text=Some%20of%20the%20causes%20of,(ectropion)%2C%20and%20glaucoma.>). Acesso em 22/03/2021.

VIEIRA, R.; SEVERINO, P.; NALONE, L.A.; SOUTO, S.B.; SILVA, A.M.; LUCARINI, M.; DURAZZO, A.; SANTINI, A.; SOUTO, E.B. Sucupira Oil-Loaded Nanostructured Lipid Carriers (NLC): Lipid Screening, Factorial Design, Release Profile, and Cytotoxicity. *Molecules*, v. 25, n. 3, p. 685, 6 fev. 2020.

WREN, S.; MINELLI, C.; PEI, Y.; AKHTAR, N. Evaluation of particle size techniques to support the development of manufacturing scale nanoparticles for application in pharmaceuticals, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 109, i. 7, p. 2284-2293, 2020.

YUKUYAMA, M. N.; GHISLENI, D. D. M.; PINTO, T. J. A.; BOU-CHACRA, N. A. Nanoemulsion: process selection and application in cosmetics – a review. *International Journal of Cosmetic Science*. v. 38, i. 1, p. 13-24. 2015.

ZHANG, X.; LIU, J.; QIAO, H.; LIU, H.; NI, J.; ZHANG, W.; SHI, Y. Formulation optimization of dihydroartemisinin nanostructured lipid carrier using response surface methodology. *Powder Technology*, v.197, p.120-128, 2010.

7. ANEXOS

Tabela Suplementar 1

Nome do Produto	Chalaco Crystal Eye Four Paws	Angeli Eyes Gentle Tear Stain Wipes	CleanOcular Eye Lotion for Cats and Dogs 100ml	Loção Pet Essencia Limpa Lágrima para Cães e Gatos	VELID Tear Stain Remover Cleansing Aid for Cats and Dogs (100mL)	Opticare Eye Cleaner 100ml	Lotion Oculaire FISAE MILAS pour chien et chat	ANU - Lotion nettoyante oculaire BIO																																																																								
Preço (R\$)*	50	75	50	31	15	25	80	55																																																																								
Excipientes** (de acordo com o rótulo)	Sodium tetracetyl sulfate 1,95% disodium butanephosphacetate 1,17%	Coarandropoyl Beesine Disodium Oleando MIPA Sulfosocaine	polyorbate 80	Coarandropolibeatina Dinitrofenil disulfonato disacido	Coarandropacetate Cetrimonium Chloride	PEG 80 polyorbate 80	Carburea Citrus Flower Water Official Sals Flower / Leaf / Stem Water	Dansurus rose hydrosol Organic blueberry hydrosol																																																																								
Legenda	<table border="0"> <tr> <td>Terpenoide/Sulfacetamida</td> <td>carborbor</td> <td>Juniperus Communis (Juniper) Pulv.Oil</td> <td>resulita</td> <td>Essas plantas de Campos Essas plantas de Area Verde</td> <td>Menthol</td> <td>chamomila resulita</td> <td>Artemisa Nobilis Flower Water Lamandula Argustifolia Water</td> <td>Organic sage hydrosol</td> </tr> <tr> <td>Sensibilizante</td> <td>propylene glycol glycerine</td> <td>Chamomilla Recutita (Matricaria) Power Extract Aloe Barbadensis (Aloe Leaf) Juice Extract Carramus Tinctus (Safflower) Seed Oil</td> <td>propylene glycol glycerol</td> <td>Óleo de benzaldeido EDTA</td> <td>Propylparaben</td> <td>sodium citrate disodium EDTA</td> <td>Hamelis Virginia Water</td> <td>Organic chamomile hydrosol</td> </tr> <tr> <td>Conservante</td> <td>potassium sorbate F-sodium EDTA citric acid</td> <td>Glucosilactone Vitamin A Vitamin E</td> <td>disodium EDTA</td> <td>Água demonizada Hidróxido de sódio</td> <td>Butylparaben Propylene Glycol EDTA</td> <td>sodium perborate Sterile water</td> <td>Citric Acid Aqua</td> <td>Stabilizer</td> </tr> <tr> <td>Viscoso</td> <td>methycel/sonic/trimone (and) methacrylate/acrylate</td> <td></td> <td>benzalkonium chloride Aqua sodium citrate sodium chloride</td> <td></td> <td>Purified Water</td> <td>hyaluron sodium chloride</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Agredido</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Emulsificante/Estabilizador</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Caro. Q. genéricas</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Preservativos</td> <td>isopropyl alcohol</td> <td>Q-trisacid</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>								Terpenoide/Sulfacetamida	carborbor	Juniperus Communis (Juniper) Pulv.Oil	resulita	Essas plantas de Campos Essas plantas de Area Verde	Menthol	chamomila resulita	Artemisa Nobilis Flower Water Lamandula Argustifolia Water	Organic sage hydrosol	Sensibilizante	propylene glycol glycerine	Chamomilla Recutita (Matricaria) Power Extract Aloe Barbadensis (Aloe Leaf) Juice Extract Carramus Tinctus (Safflower) Seed Oil	propylene glycol glycerol	Óleo de benzaldeido EDTA	Propylparaben	sodium citrate disodium EDTA	Hamelis Virginia Water	Organic chamomile hydrosol	Conservante	potassium sorbate F-sodium EDTA citric acid	Glucosilactone Vitamin A Vitamin E	disodium EDTA	Água demonizada Hidróxido de sódio	Butylparaben Propylene Glycol EDTA	sodium perborate Sterile water	Citric Acid Aqua	Stabilizer	Viscoso	methycel/sonic/trimone (and) methacrylate/acrylate		benzalkonium chloride Aqua sodium citrate sodium chloride		Purified Water	hyaluron sodium chloride			Agredido									Emulsificante/Estabilizador									Caro. Q. genéricas									Preservativos	isopropyl alcohol	Q-trisacid						
Terpenoide/Sulfacetamida	carborbor	Juniperus Communis (Juniper) Pulv.Oil	resulita	Essas plantas de Campos Essas plantas de Area Verde	Menthol	chamomila resulita	Artemisa Nobilis Flower Water Lamandula Argustifolia Water	Organic sage hydrosol																																																																								
Sensibilizante	propylene glycol glycerine	Chamomilla Recutita (Matricaria) Power Extract Aloe Barbadensis (Aloe Leaf) Juice Extract Carramus Tinctus (Safflower) Seed Oil	propylene glycol glycerol	Óleo de benzaldeido EDTA	Propylparaben	sodium citrate disodium EDTA	Hamelis Virginia Water	Organic chamomile hydrosol																																																																								
Conservante	potassium sorbate F-sodium EDTA citric acid	Glucosilactone Vitamin A Vitamin E	disodium EDTA	Água demonizada Hidróxido de sódio	Butylparaben Propylene Glycol EDTA	sodium perborate Sterile water	Citric Acid Aqua	Stabilizer																																																																								
Viscoso	methycel/sonic/trimone (and) methacrylate/acrylate		benzalkonium chloride Aqua sodium citrate sodium chloride		Purified Water	hyaluron sodium chloride																																																																										
Agredido																																																																																
Emulsificante/Estabilizador																																																																																
Caro. Q. genéricas																																																																																
Preservativos	isopropyl alcohol	Q-trisacid																																																																														
Preços far em colados em Março 2020																																																																																
**Quantidade de excipientes listada foi incluída quando informado. A ordem dos excipientes não está separada por quantidade mas agrupada por função de acordo com a legenda.																																																																																
***O produto é um colírio.																																																																																

Opticare Eye Lube Plus 20g***	Loção Belicão Limpa Lágrimas para Cães e Gatos - 80ml (qtd. p/ cada 100 mL)	Ocryl Ocular Solution 135ml	Solução de Limpeza Soft Care Eye Clean Up	Loção Pet Minato Limpa Lágrima para Cães e Gatos - 80 mL	Good Care Solução para Limpeza dos olhos Mundo Animal 100 ml	Cliny Universal Pet Eye Cleaner for Dogs & Cats	Petkin Jumbo Eye Wipes for Cats & Dogs
60	18	50	30	10	50	75	55
Disodium EDTA	Lauril éter sulfossuccinato dissódico 1,5 ml	Rose Extract Soothing Benzalkonium Chloride Disinfects the cornea and vetting properties increase corneal concentration of the active ingredients	Cococarbocelato de Sódio	Ácido Bórico 3,00%	Água	Ácido bórico	Botanical Extracts
Carbimide	extrato vegetal de camomila 0,2 ml		Glicerina	Conservante 0,01%	Fosfato Dissódico Hidrogenado	Taurina	Aloe Vera Gel
Deionized Water	propilenoglicol 1,5 ml		Conservante	Água Qsp 98,79%	Cloreto de Sódio	Paritenoil com Ions de prata	
Sorbitol	glicerina 0,4 ml	Methylene Blue: Antiseptic Boric Acid & Sodium Borate Antiseptics and Astringents	Água	Umectante 0,20%			
Carbomer	veículo (água de osmose) q.s.p. 80 mL						
Hyaluron							
Sodium Hydroxide							

Tabela Suplementar 2: Na formulação final foi medido o pH das soluções e foi observado uma redução do pH com a adição do ácido bórico. Antes da adição, o pH era de 4,76 e após a adição o pH caiu para 4,01.

Fórmula	Potencial Zeta (mV) \pm DP	
	Sem ácido bórico	Com ácido bórico
1	50,5 \pm 5,2	51,9 \pm 1,2
2	49,8 \pm 0,4	44,6 \pm 1,3
3	48,7 \pm 0,4	46,1 \pm 0,6
4	42,6 \pm 0,4	42,6 \pm 0,6
5	43,8 \pm 0,4	44,7 \pm 0,8
6	48,8 \pm 1,5	46,1 \pm 0,3
9	56,0 \pm 1,6	51,1 \pm 0,8
10	48,1 \pm 0,2	49,5 \pm 0,8
Final	45,7 \pm 1,4	45,0 \pm 3,5

Nicolas Tivelli

05/11/2021

Data e assinatura do aluno(a)



05/11/2021

Data e assinatura do orientador(a)