

INGRID ARAUJO DE SANTANA SANTOS

DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO POR REDES NEURAIS ARTIFICIAIS
DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO MINOXIDIL E
ESPIRONOLACTONA PARA O DIRECIONAMENTO FOLICULAR NO TRATAMENTO
DA ALOPECIA ANDROGENÉTICA

BRASÍLIA

2026

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E
NANOBIOTECNOLOGIA

INGRID ARAUJO DE SANTANA SANTOS

DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO POR REDES NEURAIS ARTIFICIAIS
DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO MINOXIDIL E
ESPIRONOLACTONA PARA O DIRECIONAMENTO FOLICULAR NO TRATAMENTO
DA ALOPECIA ANDROGENÉTICA

Dissertação de mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Nanociência e Nanobiotecnologia da
Universidade de Brasília como parte
dos requisitos para obtenção do título
de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Marcílio Sérgio Soares da Cunha-Filho

BRASÍLIA

2026

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e acima de tudo, agradeço ao **Senhor Jesus**, que, além do ar que respiro, me concede forças e sustento diariamente, abençoando meus planos e caminhos até aqui.

Aos meus amados pais, **Sidnei Lugão de Santana** e **Sônia de Araújo Costa de Santana**, por serem a base da minha vida, pelo amor e apoio incondicional, pelos inúmeros sacrifícios para me proporcionar o melhor, pelos ensinamentos e pelos exemplos que me moldaram como pessoa e me permitiram chegar onde estou.

À minha querida irmã, **Leticia Batista Araujo de Santana**, por ser minha melhor amiga da vida, e pelo incentivo e torcida para que eu tivesse coragem de seguir aquilo que acreditava ser o melhor para mim.

Ao meu amor e pessoa favorita, **Francisco de Sousa Santos**. Obrigada pelo companheirismo, por me ouvir e acolher, pelo cuidado e carinho diários que confortam meu coração, especialmente nos momentos difíceis, e por acreditar e torcer sempre por mim e comigo.

Ao meu orientador, **Dr. Marcílio Sergio Soares da Cunha-Filho**, por abrir as portas e confiar no meu trabalho, bem como pela paciência, dedicação, acompanhamento e orientação fundamentais ao longo desta trajetória acadêmica.

Aos integrantes e colegas do **LTMAC (Laboratório de Tecnologia de Medicamentos, Alimentos e Cosméticos)**, que, de diferentes formas, contribuíram para o meu desenvolvimento na pesquisa por meio do compartilhamento generoso de conhecimentos e experiências, sem os quais não teria sido possível desenvolver e dar continuidade aos trabalhos. Em especial, agradeço à doutoranda **Ana Luiza Lima** e ao **Dr. Idejan Padilha Gross**, que me guiaram nos primeiros passos na pesquisa, bem como ao **Dr. Breno Noronha Matos** e ao **Me. Pedro Andrés Granados Muñoz**, que foram fundamentais nas etapas finais deste trabalho. Agradeço também às minhas amigas **Dayanne Silva**

Lima e Aline Gonzaga Nishi de Oliveira, por toda a ajuda quando preciso e por compartilharem comigo esta jornada acadêmica de forma tão acolhedora.

RESUMO

A alopecia androgenética é uma condição altamente prevalente, associada a fatores genéticos e hormonais, que compromete a qualidade de vida dos indivíduos afetados. Diante das limitações das terapias convencionais e do potencial das nanopartículas poliméricas (PNPs) como sistemas de liberação direcionada, este trabalho teve como objetivo desenvolver PNPs contendo minoxidil (MXD) e espironolactona (SPL), a partir de formulações geradas por modelos de redes neurais artificiais (RNAs), visando avaliar a influência do tamanho no direcionamento folicular. Foram produzidas 127 formulações contendo MXD e 131 contendo SPL, das quais 47 e 32 formaram nanopartículas, respectivamente, possibilitando a identificação das variáveis mais relevantes para a formação dos sistemas. De modo geral, os resultados de caracterização das PNPs demonstraram ampla variabilidade nos parâmetros físico-químicos avaliados, com predominância de sistemas com índice de polidispersão inferior a 0,2, potenciais zeta superiores a 30 mV em módulo e eficiência de encapsulação acima de 70%. Para as 8 formulações empregadas nos estudos de penetração cutânea, os sistemas selecionados apresentaram parâmetros físico-químicos condizentes com as metas estabelecidas. Os modelos preditivos apresentaram desempenho satisfatório, com acurácia e precisão de até 85%, além de elevada concordância entre os valores preditos e experimentais. Os ensaios de penetração cutânea *in vitro* demonstraram que a formulação de MXD com tamanho intermediário (~200 nm) apresentou maior direcionamento para os folículos pilosos, diferindo significativamente das formulações de 115,3, 331,2 e 548,7 nm ($p < 0,0001$). Para a SPL, as formulações de 137,4 e 325,9 nm apresentaram maior direcionamento para os folículos pilosos, enquanto a de 282,1 nm apresentou desempenho inferior, evidenciando um comportamento não linear dependente do tamanho. Em conjunto, os resultados confirmam a aplicabilidade de abordagens orientadas por dados para o desenvolvimento racional de sistemas nanoestruturados e permitem correlacionar o tamanho das PNPs ao direcionamento folicular de para o MXD e SPL voltados ao tratamento da alopecia androgenética.

Palavras-chave: Alopecia androgenética; nanopartículas poliméricas; redes neurais artificiais; minoxidil; espironolactona; liberação cutânea.

ABSTRACT

Androgenetic alopecia is a highly prevalent condition associated with genetic and hormonal factors that compromises the quality of life of affected individuals. In view of the limitations of conventional therapies and the potential of polymeric nanoparticles (PNPs) as targeted drug delivery systems, this study aimed to develop PNPs containing minoxidil (MXD) and spironolactone (SPL) from formulations generated by artificial neural network (ANN) models in order to evaluate the influence of particle size on follicular targeting. A total of 127 MXD-containing formulations and 131 SPL-containing formulations were produced, of which 47 and 32 formed nanoparticles, respectively, enabling the identification of the most relevant variables for system formation. Overall, the characterization results demonstrated wide variability in the evaluated physicochemical parameters, with a predominance of systems presenting polydispersity index values below 0.2, zeta potentials above 30 mV in magnitude, and encapsulation efficiency higher than 70%. For the eight formulations selected for skin penetration studies, the systems exhibited physicochemical parameters consistent with the established targets. The predictive models showed satisfactory performance, with accuracy and precision of up to 85%, as well as high agreement between predicted and experimental values. In vitro skin penetration assays demonstrated that the MXD formulation with intermediate particle size (~200 nm) exhibited greater follicular targeting, differing significantly from the 115.3, 331.2, and 548.7 nm formulations ($p < 0.0001$). For SPL, the 137.4 and 325.9 nm formulations showed greater follicular targeting, whereas the 282.1 nm formulation exhibited inferior performance, indicating a nonlinear size-dependent behavior. Taken together, these results confirm the applicability of data-driven approaches for the rational development of nanostructured systems and allow the correlation of PNP size with follicular targeting for MXD and SPL in the treatment of androgenetic alopecia.

Keywords: Androgenetic alopecia; polymeric nanoparticles; artificial neural networks; minoxidil; spironolactone; cutaneous delivery.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação esquemática das camadas principais da pele: a epiderme, formada por células epiteliais intimamente justapostas, a derme, constituída por tecido conjuntivo denso e irregular, que abriga vasos sanguíneos, folículos pilosos, glândulas sudoríparas e outras estruturas e a hipoderme, composta principalmente por tecido conjuntivo frouxo e tecido adiposo (A). A epiderme da pele espessa apresenta cinco camadas: estrato basal, estrato espinhoso, estrato granuloso, estrato lúcido e estrato córneo (EC) (B).....5
- Figura 2.** Estrutura esquemática do estrato córneo (EC) em padrão “tijolo e argamassa”. Os corneócitos (células córneas) estão dispostos como “tijolos”, enquanto os lipídios intercelulares (ceramidas, ácidos graxos livres e colesterol) funcionam como “argamassa” entre eles, formando a principal barreira à perda de água e à penetração de substâncias. Os fatores naturais de hidratação (FNH) presentes nos corneócitos contribuem para a retenção de água e a manutenção da função barreira.....6
- Figura 3.** Representação esquemática e colorida da anatomia do folículo piloso (FP) humano. A imagem ilustra a organização estrutural do FP, destacando o infundíbulo, o ístmo e o segmento inferior, bem como suas subdivisões funcionais: região persistente, região transitória e bulbo. São evidenciadas estruturas anexas, como a glândula sebácea, o músculo eretor do pelo e a porção germinativa, fundamentais para a ciclagem folicular e o crescimento do fio. A diferenciação cromática facilita a visualização das distintas regiões anatômicas e celulares envolvidas na dinâmica do FP.....7
- Figura 4.** Representação da penetração de substâncias no estrato córneo. (A) Via transcelular; (B) viaintercelular; (C) via de anexos cutâneos.....9
- Figura 5.** Síntese da di-hidrotestosterona (DHT) pela 5α -redutase na AGA. A 5α -redutase sintetiza DHT convertendo a testosterona na presença de NADPH em DHT.11
- Figura 6.** Esquema ilustrando as fases anágena, catágena, telógena e exógena do ciclo capilar que regulam o crescimento, regressão, repouso e queda do fio de cabelo ao longo do tempo.....12

Figura 7. Efeito mediado por andrógenos no ciclo de crescimento capilar levando à AGA: a ativação excessiva do receptor androgênico (RA) resulta na miniaturização dos folículos, com encurtamento da fase anágena do ciclo capilar. As hastas capilares tornam-se mais finas e mais curtas e podem não penetrar a epiderme.....14

Figura 8. Modulação androgênica da sinalização Wnt/ β -catenina nas DPCs e seu efeito no crescimento capilar. A linha tracejada verde representa a sinalização Wnt/ β -catenina normalmente ativada nas PCs e as interações subsequentes entre o epitélio e o mesênquima, que levam à regeneração do cabelo durante o ciclo capilar. A linha contínua vermelha indica o diálogo molecular (*cross-talk*) entre a sinalização androgênica e a via Wnt/ β -catenina nas DPCs sensíveis a andrógenos do couro cabeludo calvo. O complexo ligante androgênico–receptor androgênico (DHT–RA) inibe a desfosforilação da GSK-3 β , resultando na degradação da β -catenina, e regula positivamente fatores parácrinos como TGF- β 1, IL-6 e DKK1, enquanto regula negativamente agonistas de Wnt, como Wnt10b. DKK1 é um inibidor natural da via Wnt e bloqueia a ligação do Wnt ao receptor Frizzled. CXXC5, um regulador negativo da via Wnt, também encontra-se elevado nas PCs do couro cabeludo calvo, o que interrompe a ligação de Dvl ao receptor Frizzled. PC, célula da papila dérmica; HFSC, célula-tronco do folículo piloso (FP); KC, queratinócito; FB, fibroblastos; DHT, di-hidrotestosterona; RA, receptor androgênico; GSK-3 β , glicogênio sintase quinase-3 β ; TGF- β 1, fator de crescimento transformador- β 1; IL-6, interleucina-6; DKK1, proteína 1 relacionada a Dickkopf; Dvl, Disheveled; CXXC5, proteína 5 do tipo dedo de zinco CXXC.....14

Figura 9. Estrutura química do Minoxidil (MXD).....17

Figura 10. Reação de ativação do minoxidil(MXD) para MXD sulfato pela MXD sulfotransferase analítico. SULT1A1:sulfotransferase 1A1; PAP: 3'-fosfoadenosina-5'-fosfato; PAPS: 3'-fosfoadenosina-5'-fosfato de sulfato.....18

Figura 11. Mecanismo de ação do minoxidil (MXD): atua por múltiplas vias. K: potássio; IL: interleucina; Ca: cálcio; O₂: oxigênio; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular; Wnt: wingless-related integration site; β -cat: beta-catenina; 5 α -R: 5 alfa-redutase; DHT: di-hidrotestosterona; AR: receptor de androgênio.....18

Figura 12. Estrutura química da Espironolactona (SPL).....20

Figura 13. Alvos tradicionais da espironolactona (SPL). A SPL antagoniza as ações da aldosterona e da testosterona sobre seus respectivos receptores-alvo, o receptor mineralocorticoide e o receptor androgênico (RA). A inibição desses receptores é utilizada no tratamento das condições clínicas indicadas.....	22
Figura 14. Preparação de nanopartículas poliméricas (PNPs) por nanoprecipitação.....	26
Figura 15. Representação esquemática de uma arquitetura de rede neural artificial (RNA)camada subseq permitindo que a rede aprenda relações complexas e não lineares entre as características de entrada e os alvos de saída.....	29
Figura 16. Esquema representativo do processo de obtenção de nanopartículas poliméricas (PNPs) pelo método de nanoprecipitação.....	36
Figura 17. Fluxo de desenvolvimento do modelo preditivo baseado em três etapas. A Etapa 1 utiliza um algoritmo de classificação binária; a Etapa 2, um algoritmo de classificação multiclasse; e a Etapa 3, um algoritmo de regressão para prever as propriedades das nanopartículas.....	41
Figura 18. Esquema da rede neural artificial (RNA) com as variáveis de entrada do processo de produção das nanopartículas poliméricas (PNPs) e as variáveis de saída associadas à formação e às propriedades físico-químicas das nanopartículas.....	44
Figura 19. Representação da célula de difusão do tipo PhoenixTM.....	47
Figura 20. Curvas de DSC do minoxidil (MXD) e de suas misturas físicas com Tween 80 (Tween), PVA 40–88 (PVA), Eudragit L100 (L100) e Eudragit E100 (E100) (A), bem como da espironolactona (SPL) e de suas misturas físicas com os mesmos excipientes (B). O pico de fusão do MXD ocorre a 186 °C, enquanto o da SPL ocorre a 206°C.....	49
Figura 21. Curvas de DTG obtidas por análise termogravimétrica do minoxidil (MXD) e de suas misturas físicas com Tween 80 (Tween), PVA 40–88 (PVA), Eudragit L100 (L100) e Eudragit E100 (E100) (A), bem como da espironolactona (SPL) e de suas misturas com os mesmos excipientes (B). As curvas experimentais (linha contínua) são comparadas aos perfis teóricos (linha tracejada). As temperaturas indicadas correspondem aos eventos de degradação térmica e às temperaturas iniciais de decomposição (Td).....	51
Figura 22. Distribuição percentual das formulações contendo minoxidil (MXD) quanto à formação de nanopartículas. Do total de formulações avaliadas, 63% (n = 80) resultaram	

em precipitação, enquanto 37% (n = 47) levaram à formação bem-sucedida de nanopartículas poliméricas (PNPs).....53

Figura 23. Importância das variáveis na formação de nanopartículas poliméricas (PNPs) com minoxidil (MXD), onde o eixo x representa as variáveis utilizadas e o eixo y a escala de importância (0 a 1).....54

Figura 24. Distribuição percentual das formulações contendo espironolactona (SPL) quanto à formação de nanopartículas. Do total de formulações avaliadas, 75,6% (n= 99) resultaram em precipitação, enquanto 24,4% (n = 32) levaram à formação bem-sucedida de nanopartículas poliméricas (PNPs).....55

Figura 25. Importância das variáveis na formação de nanopartículas poliméricas (PNPs) com espironolactona (SPL), onde o eixo x representa as variáveis utilizadas e o eixo y a escala de importância (0 a 1).....56

Figura 26. Distribuição dos valores de tamanho em nanômetro (A) valores de PDI (B), potencial zeta (C) e da porcentagem da eficiência de encapsulação (EE) (D) para as 47 formulações com minoxidil (MXD) que resultaram na formação de nanopartículas.....61

Figura 27. Distribuição dos valores de tamanho em nanômetro (A) valores de PDI (B), potencial zeta (C) e da porcentagem da eficiência de encapsulação (EE) (d) para as 47 formulações com espironolactona (SPL) que resultaram na formação de nanopartículas.....62

Figura 28. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) das nanopartículas contendo minoxidil (MXD): (A) formulação MXD (115,3 nm), (B) MXD (200,4 nm), (C) MXD (331,23 nm) e (D) MXD (548,70 nm). Observam-se partículas predominantemente esféricas, com tamanhos compatíveis com os valores obtidos por espalhamento dinâmico de luz (DLS). As barras de escala correspondem a 200 nm (A,C) e 500 nm (B,D).....66

Figura 29. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) das nanopartículas contendo espironolactona (SPL): (A) SPL (137,37 nm), (B) SPL (282,13 nm), (C) SPL (325,93 nm) e (D) SPL (419,27 nm). Observam-se partículas predominantemente esféricas, com tamanhos compatíveis com os valores obtidos por

espalhamento dinâmico de luz (DLS). As barras de escala correspondem a 200 nm (A) e 500 nm (B–D).....	68
Figura 30. Curva de calibração da espirolactona (SPL) (A) e do minoxidil (MXD) (B).....	70
Figura 31. Avaliação da estabilidade físico-química das nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo minoxidil (MXD) ao longo do armazenamento. (A) Tamanho médio de partícula (nm), (B) índice de polidispersão (PDI), (C) potencial zeta (mV) e (D) eficiência de encapsulação (EE) determinados no dia 1 e após 90 dias de armazenamento para as diferentes formulações (MXD1–MXD17).....	71
Figura 32. Fotografia das formulações de nanopartículas de MXD (115.3 nm), MXD 200.4 nm), MXD (331.23 nm) e MXD (548.70nm) no dia em que foram produzidas e após 90 dias armazenadas na geladeira.....	73
Figura 33. Fotografia das formulações de nanopartículas de SPL (137.37 nm), SPL (282.13 nm), SPL (325.93 nm) e SPL (419.27 nm) no dia em que foram produzidas e após 90 dias armazenadas na geladeira.....	76
Figura 34. Comparação entre os valores preditos pelo modelo de aprendizado de máquina e os valores experimentais obtidos para nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo minoxidil (MXD). (A) Tamanho médio de partícula (nm), (B) índice de polidispersão (PDI), (C) potencial zeta (mV) e (D) eficiência de encapsulação (EE, %) para as formulações selecionadas. As barras representam as médias, e as barras de erro indicam o desvio padrão (n = 3).....	78
Figura 35. Comparação entre os valores preditos pelo modelo de aprendizado de máquina e os valores experimentais obtidos para nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo espirolactona (SPL). (A) Tamanho médio de partícula (nm), (B) índice de polidispersão (PDI), (C) potencial zeta (mV) e (D) eficiência de encapsulação (EE, %) para as formulações selecionadas. As barras representam as médias, e as barras de erro indicam o desvio padrão (n = 3).....	79
Figura 36. Representação gráfica de uma curva analítica obtida por HPLC para a quantificação de espirolactona (SPL) (A) e minoxidil (MXD) (B), em metanol, na faixa de concentração de 1,0 à 25,0 µg/mL. Equação da reta para a SPL: $y = 45919x + 9291,7$.	

Coeficiente de correlação da SPL: 0,9984. Equação da reta para o MXD: $y = 87345x + 18714$. Coeficiente de correlação da canrenona: 0,998.....	81
Figura 37. Comparação da recuperação de espirolactona (SPL) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) em cada camada da pele para cada formulação de nanopartícula polimérica (PNP): SPL (137.37) (A), SPL (282.13)(B), SPL (325.93)(C) e SPL (419.27) (D). O símbolo (*) representa as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 determinações (n=6).....	83
Figura 38. Quantidade (ug/cm^2) de SPL liberado no meio receptor de cada PNP no estudo in vitro de penetração cutânea.....	84
Figura 39. Recuperação de minoxidil (MXD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nos folículos pilosos (A), estrato córneo (EC) (B), pele remanescente (C) e o fator de direcionamento (d) do MXD para os folículos pilosos (FP). O símbolo (*) representa as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 determinações (n=6).....	85
Figura 40. Comparação da recuperação de espirolactona (SPL) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) em cada camada da pele para cada formulação de nanopartícula polimérica (PNP): SPL (137.37) (A), SPL (282.13)(B), SPL (325.93)(C) e SPL (419.27) (D). O símbolo (*) representa as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 determinações (n=6).....	88
Figura 41. Quantidade (ug/cm^2) de SPL liberado no meio receptor de cada PNP no estudo in vitro de penetração cutânea.....	89
Figura 42. Recuperação de espirolactona (SPL) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nos folículos pilosos (A), estrato córneo (EC) (B), pele remanescente (C) e o fator de direcionamento (d) do SPL para os folículos pilosos (FP). O símbolo (*) representa as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 determinações (n=6).....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição quantitativa e variáveis de produção das 30 formulações iniciais de nanopartículas poliméricas (PNPs) para minoxidil (MXD) e espirolactona (SPL).....	33
Tabela 2. Composição quantitativa e variáveis de produção das formulações das nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo minoxidil (MXD).....	59
Tabela 3. Composição quantitativa e variáveis de produção das formulações das nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo espirolactona (SPL).....	60
Tabela 4. Caracterização das nanopartículas poliméricas (PNPs) carregadas com o minoxidil (MXD). Os resultados apresentados estão como a média (\pm) de três determinações (n=3).....	64
Tabela 5. Caracterização das nanopartículas poliméricas (PNPs) carregadas com a espirolactona (SPL). Os resultados apresentados estão como a média (\pm) de três determinações (n=3).....	65
Tabela 6. Caracterização das nanopartículas poliméricas (PNPs) carregadas com o minoxidil (MXD) no dia 1 e dia 90. Os resultados apresentados estão como a média (\pm) de três determinações (n=3).....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGA– Alopecia androgenética

ANVISA– Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DHT– Di-hidrotestosterona

DL– Carregamento de fármaco

DLS– Espalhamento de luz dinâmico

DSC- Calorimetria exploratória de varredura

EC– Estrato córneo

EE– Eficiência de encapsulação

E100- Eudragit® E100

FDA– Food and Drug Administration

FP– Folículo piloso

FPHL– Female Pattern Hair Loss/ padrão feminino da alopecia androgenética

FTIR– Espectroscopia no infravermelho

HPLC– Cromatografia a líquido de alta eficiência

IA– Inteligência artificial

L100- Eudragit® L100

MAE– Erro absoluto médio

MET– Microscopia eletrônica de transmissão

MEV– Microscopia eletrônica de varredura

ML– Aprendizado de máquina

MPHL– Male Pattern Hair Loss/ padrão masculino da alopecia androgenética

MXD– Minoxidil

PDI– Índice de polidispersidade

PEG– Polietilenoglicol

PGD2– Prostaglandina D2
PLGA– Poli(lactídeo-co-glicolídeo)
PNP– Nanopartícula polimérica
PVA– álcool polivinílico
R²– Coeficiente de determinação
RA– receptor androgênico
RMN– Ressonância magnética nuclear
RMSE– Raiz do erro quadrático médio
RNA– Rede neural artificial
SLNs– Nanopartículas lipídicas sólidas
SPL– Espironolactona
pH– Potencial hidrogeniônico
TGA– Análise termogravimétrica
VEGF– Crescimento endotelial vascular
Wnt– Wingless–Int

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 ANATOMIA DA PELE E ANEXOS CUTÂNEOS	4
3.2 PERMEAÇÃO DE FÁRMACOS ATRAVÉS DA PELE	8
3.3 ALOPECIA ANDROGENÉTICA: FISIOPATOLOGIA E TRATAMENTOS.....	10
3.4 MINOXIDIL	16
3.5 ESPIRONOLACTONA.....	19
3.6 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS	23
3.7 REDES NEURAIS ARTIFICIAIS.....	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 MATERIAL.....	31
4.2 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DO MINOXIDIL E DA ESPIRONOLACTONA COM POLÍMEROS E EXCIPIENTES.....	32
4.2.1 Preparo das amostras.....	32
4.2.2 Análise térmica.....	32
4.3 PRODUÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS.....	33
4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	36
4.4.1 Diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade (PDI) e Potencial Zeta ..	36
4.4.2 Curva padrão de espirolactona (SPL) e minoxidil (MXD) pelo método espectroscópico UV	37
4.4.3 Eficiência de encapsulação (EE)	37
4.4.4 Morfologia	38
4.4.5 Análise do potencial hidrogeniônico (pH).....	38
4.5 ESTUDO DE ESTABILIDADE	38
4.6 DESENVOLVIMENTO DO MODELO PREDITIVO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS COM MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA	39
4.6.1 Fluxo de desenvolvimento dos modelos preditivos.....	39
4.6.2 Etapa 1: Modelo de classificação binária.....	41
4.6.3 Etapa 2: Modelo de multiclassificação	42
4.6.4 Refinamento do modelo	43
4.6.5 Entradas e saídas das redes neurais artificiais.....	44
4.7 MÉTODO BIOANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA.....	45

4.7.1 Linearidade do minoxidil e espironolactona	45
4.8 ESTUDOS IN VITRO DE PENETRAÇÃO CUTÂNEA DO MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA A PARTIR DAS NANOPARTÍCULAS SELECIONADAS	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DO MINOXIDIL E DA ESPIRONOLACTONA COM POLÍMEROS E EXCIPIENTES	48
5.2 PRODUÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	52
5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	60
5.3.1 Curva padrão de espironolactona e minoxidil pelo método espectroscópico UV	69
5.4 ESTUDO DE ESTABILIDADE	70
5.5 DESENVOLVIMENTO DOS MODELOS PREDITIVOS DO MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA	76
5.6 MÉTODO BIOANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA	80
5.6.1 Linearidade	81
5.7 ESTUDOS IN VITRO DE PENETRAÇÃO CUTÂNEA DA ESPIRONOLACTONA E MINOXIDIL A PARTIR DAS NANOPARTÍCULAS SELECIONADAS	82
6. CONCLUSÃO	93
REFERÊNCIAS	94
APÊNDICE A – Distribuição balanceada das variáveis experimentais no bloco inicial de formulações	120
APÊNDICE B- Tabela das formulações para nanopartículas com minoxidil simuladas pela rede neural artificial e produzidas.	122
APÊNDICE C- Tabela das formulações para nanopartículas com espironolactona simuladas pela rede neural artificial e produzidas.	127
APÊNDICE D– Distribuição das variáveis experimentais das formulações com minoxidil que resultaram em nanopartículas.	132
APÊNDICE E– Distribuição das variáveis experimentais das formulações com espironolactona que resultaram em nanopartículas.	133

1. INTRODUÇÃO

A alopecia androgenética (AGA), ou calvície de padrão masculino ou feminino, é um distúrbio de queda capilar em padrão definido que afeta aproximadamente 73% dos homens e 57% das mulheres ao longo da vida (CHHETRI; HUANG, 2021; ADIL; GODWIN, 2017). A AGA é influenciada por predisposição genética e por sensibilidade folicular excessiva aos andrógenos (NTSHINGILA *et al.*, 2023), como a dihidrotestosterona (DHT) (ADIL; GODWIN, 2017). Embora seja altamente prevalente, não é uma condição fatal, mas pode causar um impacto psicossocial severo, especialmente em mulheres e em homens mais jovens (NTSHINGILA *et al.*, 2023), gerando sofrimento psicológico, baixa autoestima, depressão e contribuindo para a redução da qualidade de vida (CHHETRI; HUANG, 2021).

Diante da elevada prevalência da AGA e de seu impacto psicossocial significativo, estratégias terapêuticas farmacológicas têm sido amplamente empregadas com o objetivo de modular os mecanismos envolvidos na miniaturização folicular. Nesse contexto, o minoxidil (MXD) tópico destaca-se como um dos principais fármacos utilizados no tratamento da AGA em homens e mulheres, aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (NASCIMENTO *et al.*, 2020; ANVISA, 2025). Embora seu mecanismo de ação não seja completamente elucidado (SUCHONWANIT *et al.*, 2019), sabe-se que o MXD é um pró-fármaco, sendo convertido em sua forma ativa pela enzima sulfotransferase presente na bainha radicular externa dos folículos capilares, contribuindo para a estimulação do crescimento capilar (GOREN *et al.*, 2018). Adicionalmente, a espironolactona (SPL), um esteroide sintético com propriedades antiandrogênicas (SEARLE *et al.*, 2020), tem sido utilizada de forma off-label em condições dermatológicas, incluindo a AGA, especialmente em mulheres, atuando na modulação da ação dos andrógenos no folículo piloso (FP) (SEARLE *et al.*, 2020; LY *et al.*, 2023).

Apesar da relevância clínica do MXD e da SPL no manejo da AGA, as formulações convencionais desses fármacos apresentam limitações que podem comprometer a otimização do tratamento. No caso do MXD tópico, destacam-se a baixa solubilidade em

água e o uso de veículos potencialmente irritantes (SANTOS *et al.*, 2020), enquanto a SPL, quando administrada por via sistêmica, pode apresentar efeitos colaterais dose-dependentes associados à sua ação antiandrogênica, o que pode restringir sua aplicação, especialmente em homens (SOLIMAN *et al.*, 2022). Diante desse cenário, torna-se necessário o desenvolvimento de estratégias capazes de aprimorar o direcionamento dos fármacos ao sítio de ação, reduzindo a exposição sistêmica e potencializando a eficácia terapêutica. As Nanopartículas Poliméricas (PNPs) emergem, assim, como uma abordagem promissora, uma vez que representam um avanço nos sistemas de liberação de medicamentos e demonstram elevado potencial para permeação cutânea e acúmulo preferencial nos FPs, configurando-se como uma alternativa atrativa para otimizar a entrega de MXD e SPL no tratamento da AGA (FANG *et al.*, 2014; ELTAIB, 2025; FERREIRA-NUNES *et al.*, 2021; SHAIKH *et al.*, 2023).

Entretanto, a funcionalidade e o sucesso dessas PNPs como sofisticados sistemas de entrega de medicamentos dependem diretamente do controle inigualável sobre suas propriedades físico-químicas, como tamanho, forma, arquitetura, carga e funcionalidade de superfície (BEACH *et al.*, 2024; GESZKE-MORITZ *et al.*, 2024). O tamanho da partícula é um parâmetro definidor essencial, pois impacta crucialmente a farmacocinética, a biodistribuição e a segurança das nanomedicinas (DESAI *et al.*, 2012). Nesse contexto que surge um desafio crítico para a aplicação clínica das PNPs: a obtenção de propriedades físico-químicas adequadas e a determinação do tamanho de partícula ideal para o direcionamento folicular, pois ainda há resultados conflitantes na literatura (DEREIAH *et al.*, 2024; HEYDARI *et al.*, 2024), com estudos indicando maior acúmulo tanto em partículas maiores (180–400 nm) quanto em menores (21–70 nm) (FERREIRA-NUNES *et al.*, 2021; HEYDARI *et al.*, 2024; DEREIAH *et al.*, 2024).

Modelos preditivos baseados em Redes Neurais Artificiais (RNAs) e outras técnicas de aprendizado de máquina (ML) representam uma solução promissora e eficiente para alcançar formulações de nanopartículas, especialmente as PNPs, com propriedades específicas e desejadas, resultando em economia de tempo e recursos (WANG *et al.*, 2022; AMANI; MOHAMMADYANI, 2011). Sua aplicação no campo farmacêutico permite a otimização de nanoformulações poliméricas (WANG *et al.*, 2022; MIHANDOOST *et al.*, 2024) e já demonstraram capacidade de prever propriedades

críticas, como o tamanho de partícula e o índice de polidispersidade (PDI) (WANG *et al.*, 2022; YOUSHIA *et al.*, 2017; KIMMIG *et al.*, 2021). Portanto, este trabalho propôs desenvolver PNPs contendo MXD ou SPL, a partir de formulações geradas por modelos de RNAs treinados para avaliar a influência do tamanho das partículas no direcionamento folicular, visando o tratamento tópico da AGA.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi elaborar PNPs contendo MXD e SPL, a partir de modelos de RNAs treinados para avaliar a influência do tamanho das partículas no direcionamento folicular, visando ao tratamento tópico da AGA.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a compatibilidade química entre os fármacos, os polímeros e os excipientes utilizados no preparo das PNPs;
- Testar um bloco inicial padrão de formulações de PNPs com MXD e SPL;
- Caracterizar as nanopartículas formadas quanto ao tamanho, PDI, potencial zeta e eficiência de encapsulação (EE);
- Desenvolver um modelo de aprendizado de máquina baseado em RNA para PNPs com MXD e SPL a partir dos dados das PNPs formadas e propriedades caracterizadas;
- Treinar a RNA para aprender os padrões que relacionam as variações das formulações com as propriedades que as PNPs apresentam;
- Obter novas formulações simuladas pela RNA, a partir do treinamento com o bloco inicial testado;
- Produzir as novas formulações simuladas para o MXD e o SPL;
- Caracterizar as nanopartículas formadas com formulações simuladas;
- Retroalimentar a RNA com os novos dados obtidos com as formulações simuladas;

- Avaliar *in vitro* a penetração das formulações de diferentes tamanhos com MXD e SPL, nas camadas da pele e comparar o direcionamento do fármaco para os FPs promovido por cada PNP;
- Avaliar a estabilidade dos nanossistemas por 90 dias a 4 °C.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ANATOMIA DA PELE E ANEXOS CUTÂNEOS

A pele humana, considerada o maior órgão do corpo, apresenta uma superfície que varia entre 1,5 e 2 m² em adultos, correspondendo a cerca de 15% a 16% do peso corporal total. Ela funciona como uma interface multifuncional complexa e seletiva entre o meio interno e o ambiente externo, desempenhando papéis vitais na proteção contra microrganismos, radiação ultravioleta e agentes químicos, além de atuar na termorregulação, percepção sensorial, síntese de vitamina D e prevenção da perda excessiva de fluidos e eletrólitos (AKOMBAETWA *et al.*, 2023; PRAJAPATI *et al.*, 2025; WICKETT; VISSCHER, 2006).

Estruturalmente, a pele é composta por três camadas principais integradas (Figura 1): a epiderme, a derme e a hipoderme ou tecido subcutâneo (AKOMBAETWA *et al.*, 2023; PRAJAPATI *et al.*, 2025; ITA, 2020). A epiderme consiste em um epitélio estratificado escamoso queratinizado de origem ectodérmica, formado predominantemente por queratinócitos (≈95%), além de melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (ITA, 2020; MCGRATH; EADY; POPE, 2004; SOUTO *et al.*, 2022; LAI-CHEONG; MCGRATH, 2021). Essa camada é a principal responsável pela função de barreira cutânea, a qual é reforçada pelo manto ácido superficial, com pH entre 4,5 e 5,5, e pelas junções estreitas localizadas no estrato granuloso, que selam os espaços intercelulares, restringindo a passagem de patógenos e macromoléculas (WANG *et al.*, 2018; MOROKI, 2023; BAROLI, 2010; RANCAN *et al.*, 2012).

Ela se subdivide em estratos que refletem o estágio de diferenciação celular, partindo da camada basal, onde ocorre a proliferação, seguida pelos estratos espinhoso, granuloso, lúcido (presente em peles espessas como palmas e plantas) e, finalmente, o

estrato córneo (EC) (BHAT; FEBINA; PRASANNA, 2025; BAROLI, 2010; WICKETT; VISSCHER, 2006).

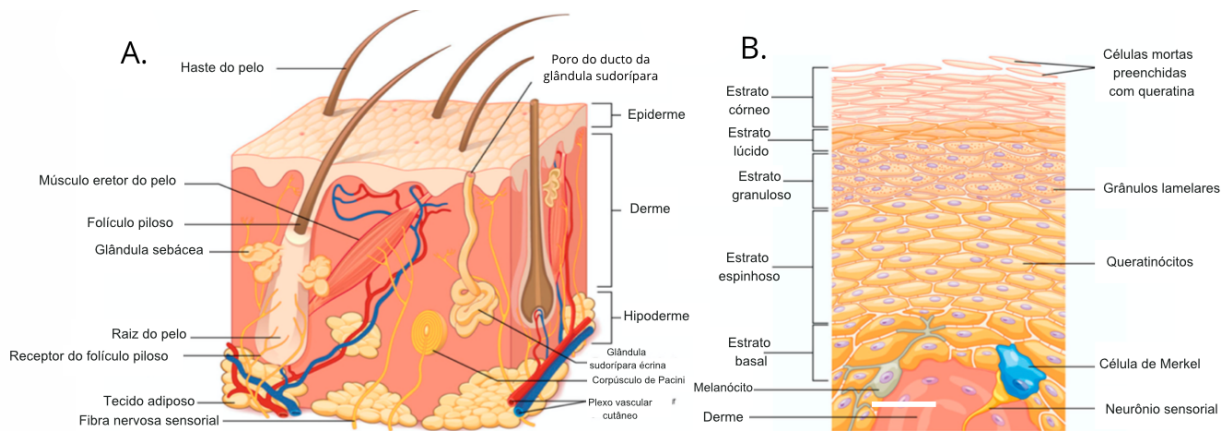


Figura 1. Representação esquemática das camadas principais da pele: a epiderme, formada por células epiteliais intimamente justapostas, a derme, constituída por tecido conjuntivo denso e irregular, que abriga vasos sanguíneos, folículos pilosos, glândulas sudoríparas e outras estruturas e a hipoderme, composta principalmente por tecido conjuntivo frouxo e tecido adiposo (A). A epiderme da pele espessa apresenta cinco camadas: estrato basal, estrato espinhoso, estrato granuloso, estrato lúcido e estrato córneo (EC) (B). Adaptado de Menichetti; Mordini; Montalti, 2024.

O EC é o produto final da diferenciação terminal dos queratinócitos e representa a principal barreira física da pele, sendo frequentemente descrito pelo modelo de "tijolos e argamassa" (Figura 2) (LEYVA-MENDIVIL *et al.*, 2015; ITA, 2020; MATSUI; AMAGAI, 2015; KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020). Nesse modelo, os tijolos são os corneócitos — células mortas, achatadas e anucleadas preenchidas por queratina e filagrina — enquanto a argamassa é composta por uma matriz lipídica extracelular organizada em bicamadas lamelares ricas em ceramidas (50%), colesterol (25%) e ácidos graxos livres (10-20%) (ITA, 2020; RASZEWSKA-FAMIELEC; FLIEGER, 2022; WICKETT; VISSCHER, 2006). A integridade estrutural dessa camada é mantida por corneodesmossomos, que são pontes proteicas que unem os corneócitos e cuja degradação enzimática permite o processo de descamação na superfície (RASZEWSKA-FAMIELEC; FLIEGER, 2022; LEYVA-MENDIVIL *et al.*, 2015; ITA, 2020; BAROLI, 2010).

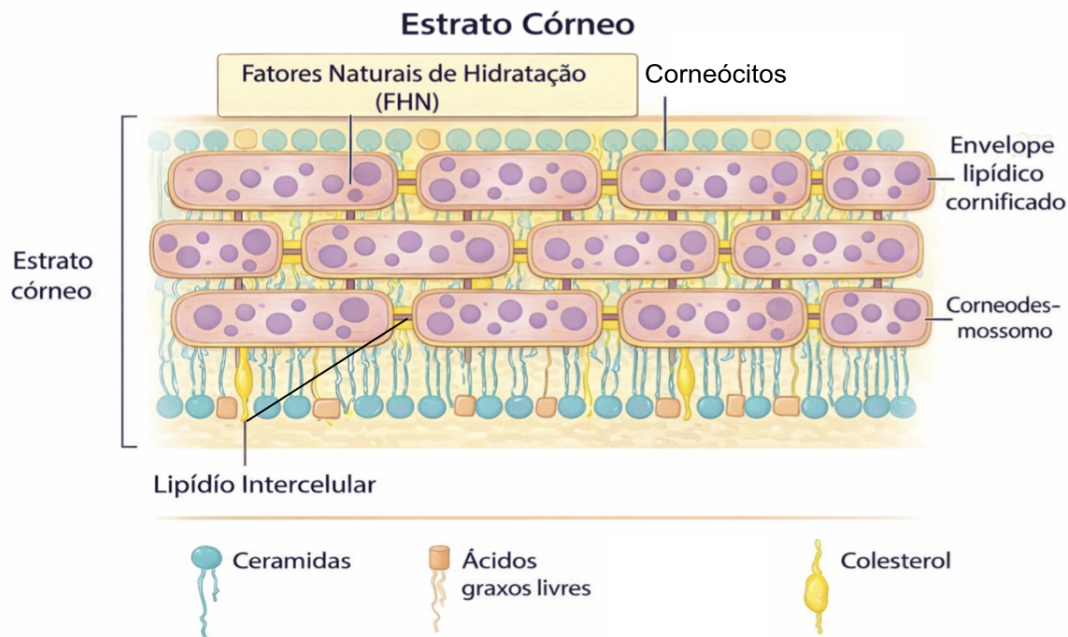


Figura 2. Estrutura esquemática do estrato córneo (EC) em padrão “tijolo e argamassa”. Os corneócitos (células corneas) estão dispostos como “tijolos”, enquanto os lipídios intercelulares (ceramidas, ácidos graxos livres e colesterol) funcionam como “argamassa” entre eles, formando a principal barreira à perda de água e à penetração de substâncias. Os fatores naturais de hidratação (FNH) presentes nos corneócitos contribuem para a retenção de água e a manutenção da função barreira. Adaptado de Vecteezy, 2026.

Abaixo da epiderme encontra-se a derme, um tecido conjuntivo de origem mesodérmica que fornece suporte estrutural e elasticidade através de uma rede densa de fibras de colágeno (tipos I e III) e elastina, sintetizadas por fibroblastos (MCGRATH; EADY; POPE, 2004; ITA, 2020; LAI-CHEONG; MCGRATH, 2021; SALAZAR *et al.*, 2022). A derme é dividida em camada papilar superficial, rica em capilares e terminações nervosas, e camada reticular profunda, que é mais espessa e resistente à tração (MCGRATH; EADY; POPE, 2004; ITA, 2020; SALAZAR *et al.*, 2022). A camada mais profunda, a hipoderme, é composta por tecido adiposo organizado em lóbulos separados por septos fibrosos, atuando como reserva de energia, isolante térmico e amortecedor mecânico (ITA, 2020; AKAT *et al.*, 2022; LEMOS *et al.*, 2018; PRAJAPATI *et al.*, 2025).

Os anexos cutâneos, como os FPs (Figura 3) e as glândulas sebáceas, formam a unidade pilossebácea, que se origina da epiderme mas mergulha profundamente na derme e hipoderme (ITA, 2020; MARTEL *et al.*, 2025; PROST-SQUARCIONI, 2006). O FP é um mini-órgão complexo dividido em três segmentos: o infundíbulo (da superfície

até a glândula sebácea), o istmo (da glândula sebácea até a inserção do músculo eretor do pelo) e o segmento inferior, que inclui o bulbo (MARTEL et al.,2025; WELLE, 2023; LIN; ZHU; HE, 2022). O bulbo contém a matriz capilar, local de altíssima atividade mitótica que envolve a papila dérmica, responsável por induzir o crescimento do pelo (MARTEL et al.,2025; WELLE, 2023; YOUSEF et al., 2024).

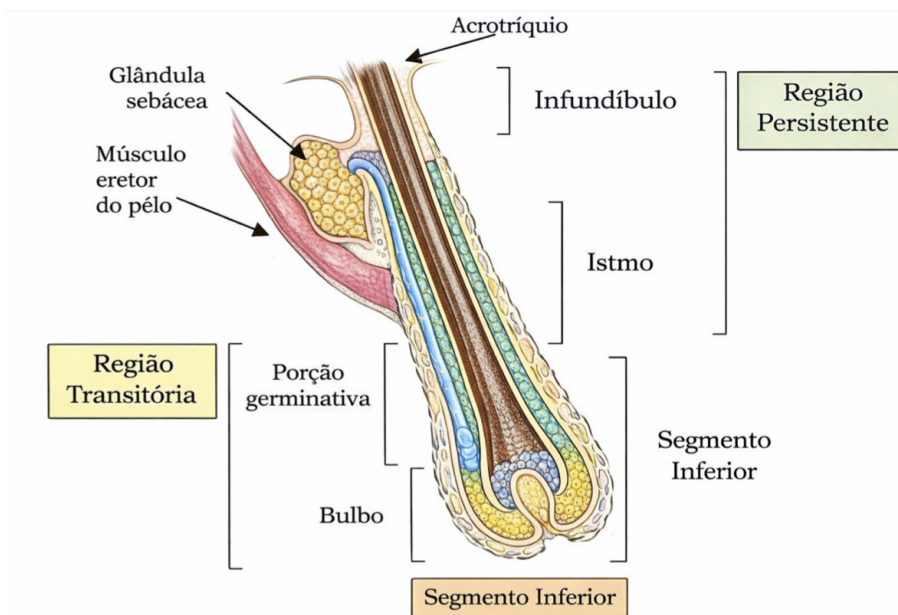


Figura 3. Representação esquemática e colorida da anatomia do folículo piloso (FP) humano. A imagem ilustra a organização estrutural do FP, destacando o infundíbulo, o istmo e o segmento inferior, bem como suas subdivisões funcionais: região persistente, região transitória e bulbo. São evidenciadas estruturas anexas, como a glândula sebácea, o músculo eretor do pelo e a porção germinativa, fundamentais para a ciclagem folicular e o crescimento do fio. A diferenciação cromática facilita a visualização das distintas regiões anatômicas e celulares envolvidas na dinâmica do FP. Adaptado de Barbosa, 2023.

Uma estrutura essencial é a protuberância (bulge) no istmo, que abriga células-tronco multipotentes capazes de regenerar o folículo e a própria epiderme após lesões (YOUSEF et al., 2024; MARTEL et al.,2025; PROST-SQUARCIONI, 2006; FUCHS, 2007). Além disso, o FP é considerado um local de privilégio imune, protegendo as células-tronco de ataques autoimunes (ERDOĞAN, 2017; KABASHIMA *et al.*, 2018) . As glândulas sebáceas associadas são glândulas exócrinas de secreção holócrina, cujos sebócitos se rompem para liberar o sebo (MCGRATH; EADY; POPE, 2004; PROST-SQUARCIONI, 2006; YOUSEF et al., 2024). O sebo é uma mistura de lipídios como

esqualeno e ceras que lubrifica o cabelo, contribui para a barreira hidrofóbica e possui propriedades bactericidas (MARTEL *et al.*, 2025; YOUSEF *et al.*, 2024; MOROKI, 2023).

3.2 PERMEAÇÃO DE FÁRMACOS ATRAVÉS DA PELE

No contexto da entrega de fármacos, o EC, representa o principal desafio biológico, atuando como a etapa limitante da taxa de permeação cutânea (CHATURVEDI; GARG, 2021; PHATALE *et al.*, 2022; N`DA, 2014). Para que uma molécula seja absorvida, ela deve seguir principalmente três vias (Figura 4): a via transepidérmica intercelular, a via transepidérmica transcelular ou a via transapendicular (YU *et al.*, 2021; KOVÁČIK; KOPEČNÁ; VÁVROVÁ, 2020; TAPFUMANEYI *et al.*, 2025).

A via intercelular (ou paracelular) (Figura 4B) é amplamente reconhecida como a principal rota para a maioria dos fármacos de baixo peso molecular e lipofílicos, ocorrendo através dos espaços contínuos da matriz lipídica entre os corneócitos (TIAN *et al.*, 2021; KOVÁČIK; KOPEČNÁ; VÁVROVÁ, 2020; TAPFUMANEYI *et al.*, 2025). Embora esse caminho seja altamente tortuoso, o que aumenta a distância real de difusão em comparação com a espessura física do EC, ele evita a necessidade de atravessar o interior densamente compactado das células (KOVÁČIK; KOPEČNÁ; VÁVROVÁ, 2020; TAPFUMANEYI *et al.*, 2025; LUNTER *et al.*, 2024).

A via transcelular (ou intracelular) (Figura 4A), por sua vez, exige que a molécula atravesse diretamente os corneócitos e seus envelopes proteicos altamente reticulados (KOVÁČIK; KOPEČNÁ; VÁVROVÁ, 2020; N`DA, 2014; ROBERTS *et al.*, 2021). Esse trajeto envolve sucessivas etapas de partição entre domínios hidrofílicos (queratina hidratada no interior celular) e domínios lipofílicos (membranas celulares), o que o torna menos favorável para a maioria das moléculas, que não possuem a afinidade equilibrada necessária para transitar entre esses ambientes tão distintos (KOVÁČIK; KOPEČNÁ; VÁVROVÁ, 2020; N`DA, 2014; ROBERTS *et al.*, 2021).

Complementarmente, a via transapendicular (Figura 4C), também conhecida como rota de "derivação", ocorre através dos apêndices cutâneos, como FPs, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas (KOVÁČIK; KOPEČNÁ; VÁVROVÁ, 2020; N`DA, 2014; TAPFUMANEYI *et al.*, 2025). Embora esses anexos ocupem apenas cerca de 0,1% a 1%

da superfície total da pele, eles representam canais cruciais para a entrada de moléculas grandes, polares ou íons, que encontram extrema resistência na matriz lipídica do EC (RUELA *et al.*, 2016; KOVÁČIK; KOPEČNÁ; VÁVROVÁ, 2020; ROBERTS *et al.*, 2021; BARTOSOVA; BAJGAR, 2012).

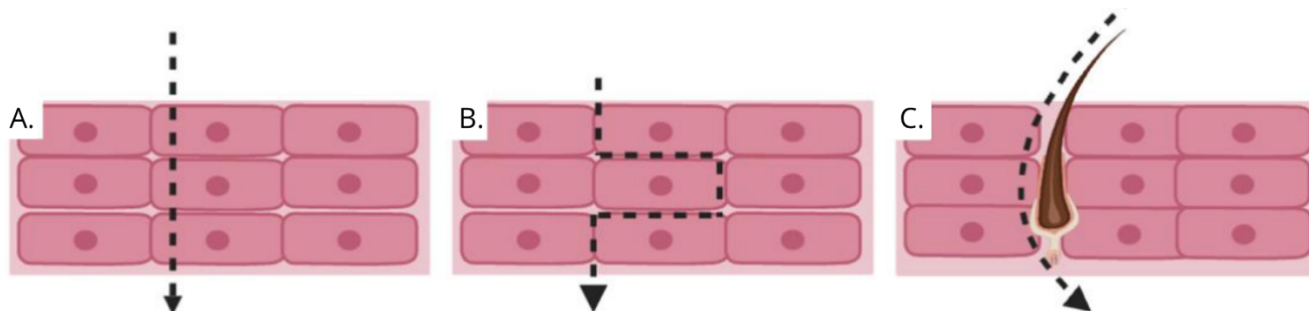


Figura 4. Representação da penetração de substâncias no estrato córneo. (A) Via transcelular; (B) viaintercelular; (C) via de anexos cutâneos. Fonte: Costa, 2023.

Além de facilitar a passagem imediata, os FPs atuam como reservatórios de fármacos, criando depósitos que permitem uma liberação sustentada para a derme e a circulação sistêmica subsequente (RAINA *et al.*, 2023; SOUTO *et al.*, 2022; ROBERTS *et al.*, 202).

Para que a absorção ocorra de forma eficiente, o fármaco deve possuir uma propensão adequada para se partilhar nos lipídios intercelulares do EC, sendo amplamente aceito que o log P ideal para essa transição situe-se entre 1 e 3 (YU *et al.*, 2021; TAPFUMANEYI *et al.*, 2025; BARTOSOVA; BAJGAR, 2012). Além da natureza físico-química do ativo, a temperatura da pele também exerce influência sobre o fluxo, uma vez que o calor pode aumentar a difusão e a solubilidade do fármaco no EC, além de dilatar as vias de penetração (TAPFUMANEYI *et al.*, 2025).

No caso de fármacos aplicados em suas formas "livres" ou convencionais, a permeação enfrenta desafios significativos de solubilidade e direcionamento (DEREIAH *et al.*, 2024). A SPL, por exemplo, é classificada como um fármaco de Nível II, possuindo baixa solubilidade aquosa, mas alta permeabilidade intrínseca através de membranas biológicas (FERREIRA-NUNES *et al.*, 2021). Em sua forma pura e sem o auxílio de sistemas de entrega, ela apresenta uma estrutura cristalina e tamanho de partícula relativamente grande, o que resulta em uma baixa taxa de dissolução e limita sua biodisponibilidade em formulações tópicas tradicionais (KELIDARI *et al.*, 2015). Estudos

demonstram que a SPL livre tem dificuldade em atingir as camadas mais profundas (epiderme viável e derme) e apresenta uma retenção cutânea significativamente menor (cerca de 17% após 24 horas) em comparação com sistemas nanoestruturados, tendendo a se dispersar preferencialmente em meios oleosos como o sebo (FERREIRA-NUNES *et al.*, 2021; KELIDARI *et al.*, 201).

De maneira análoga, o MXD é caracterizado como um fármaco do tipo HP-HR (Alta Permeação - Alta Retenção), o que sugere uma boa capacidade teórica de absorção (TIAN *et al.*, 2021). No entanto, em soluções alcoólicas convencionais, sua permeabilidade através do EC íntegro é limitada e o ativo carece de um direcionamento específico para as unidades pilossebáceas, que são seu alvo terapêutico principal (ZHAO *et al.*, 2025; ROBERTS *et al.*, 2021).

A literatura indica que o comportamento desses fármacos na permeação cutânea é marcado por um desempenho restrito quando em formas livres, mas é drasticamente otimizado quando associado à nanotecnologia. Sistemas como Nanopartículas Lipídicas Sólidas (SLNs), cerossomas, etossomas ou PNPs aproveitam as vias intercelular e transfolicular para aumentar a deposição tecidual, reduzir efeitos colaterais sistêmicos e concentrar o fármaco no FP de forma mais segura e eficaz (DEREIAH *et al.*, 2024; CHATURVEDI; GARG, 2021; FERREIRA-NUNES *et al.*, 2021; ZHAO *et al.*, 2025).

3.3 ALOPECIA ANDROGENÉTICA: FISIOPATOLOGIA E TRATAMENTOS

A AGA, comumente denominada calvície de padrão masculino ou feminino, é reconhecida mundialmente como a forma mais prevalente de perda de cabelo progressiva (ELGOBASHY *et al.*, 2024; KELLY *et al.*, 2016; IYENGAR; LI, 2025). Conceitualmente, trata-se de uma desordem não cicatricial, o que significa que o FP não é destruído permanentemente, mas sofre um processo de miniaturização progressiva (ELGOBASHY *et al.*, 2024; WILLEMS *et al.*, 2021; CHAVES *et al.*, 2021). Esse fenômeno resulta na transformação de fios terminais (longos, grossos e pigmentados) em fios velo (curtos, finos e hipopigmentados), que muitas vezes perdem a capacidade de penetrar a superfície da pele (ELGOBASHY *et al.*, 2024; WILLEMS *et al.*, 2021; CHAVES *et al.*, 2021; GUPTA *et al.*, 2025).

A fisiopatologia da AGA é um processo multifatorial complexo que envolve a interação entre predisposição genética, hormônios e o microambiente folicular (ELGOBASHY *et al.*, 2024; MCELWEE *et al.*, 2025; KIDANGAZHIATHMANA *et al.*, 2022). O mediador central é a DHT, um metabólito da testosterona convertido pela enzima 5 α -redutase (principalmente a do tipo II presente no folículo) (Figura 5), que possui uma afinidade dez vezes maior pelos receptores androgênicos (RA) do que a própria testosterona (ELGOBASHY *et al.*, 2024; NTSHINGILA *et al.*, 2023; XIAO *et al.*, 2025; ROSSI *et al.*, 2016; KIDANGAZHIATHMANA *et al.*, 2022). Em indivíduos geneticamente predispostos, os folículos das áreas sensíveis apresentam maior abundância de receptores androgênicos e maior atividade enzimática, fenômeno conhecido como "paradoxo androgênico", pois enquanto os andrógenos estimulam o crescimento de pelos terminais no corpo e barba, provocam a regressão dos fios no couro cabeludo (WILLEMS *et al.*, 2021; PREMANAND *et al.*, 2018; XIAO *et al.*, 2025; KIDANGAZHIATHMANA *et al.*, 2022).

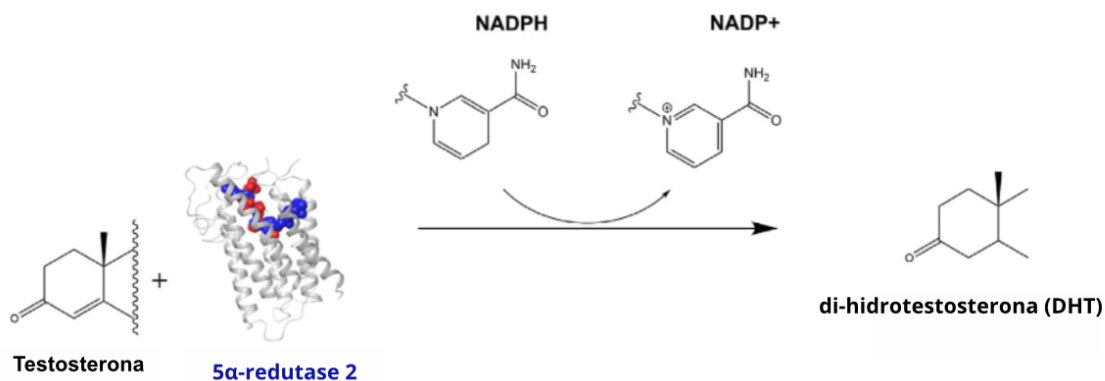


Figura 5. Síntese da di-hidrotestosterona (DHT) pela 5 α -redutase na AGA. A 5 α -redutase sintetiza DHT convertendo a testosterona na presença de NADPH em DHT. Fonte: Ntshingila *et al.*, 2023.

A patogênese é marcada por dois eventos principais: a miniaturização progressiva do folículo e alterações na dinâmica do ciclo capilar (Figura 6) (ELGOBASHY *et al.*, 2024; XIAO *et al.*, 2025; KIDANGAZHIATHMANA *et al.*, 2022). Esse ciclo normalmente é composto pelas fases anágena (crescimento ativo), catágena (regressão mediada por apoptose) e telógena (repouso), seguidas pela fase exógena, na qual ocorre a eliminação do fio antigo (MCGRATH; EADY; POPE, 2004; MARTEL *et al.*, 2025; LIN; ZHU; HE,

2022). A fase anágena, que no couro cabeludo humano apresenta duração aproximada de 2 a 8 anos e compreende cerca de 85% a 95% dos folículos pilosos em um dado momento, é caracterizada pela expansão do folículo e pela produção contínua da fibra capilar (ERDOĞAN, 2017; WELLE, 2023; LAI-CHEONG; MCGRATH, 2021).

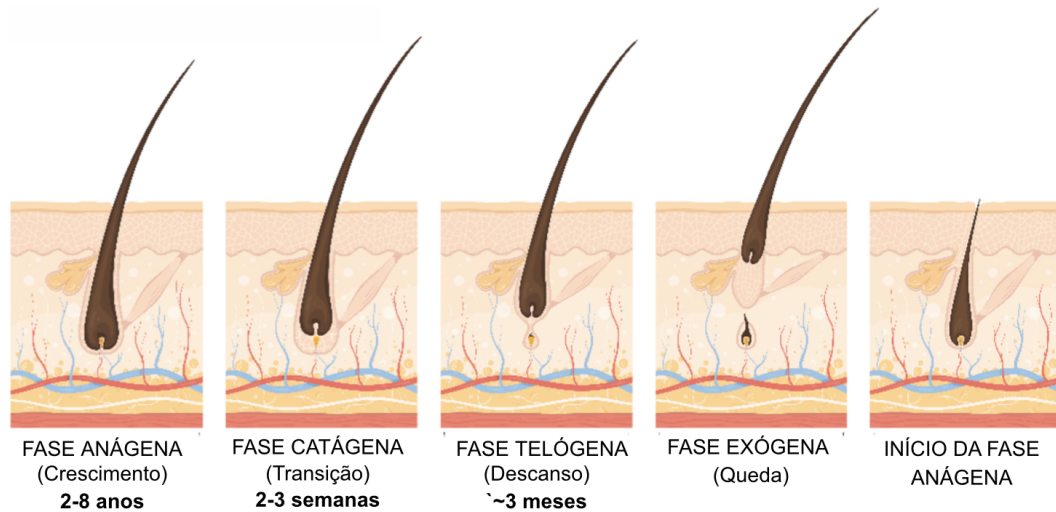


Figura 6. Esquema ilustrando as fases anágena, catágena, telógena e exógena do ciclo capilar que regulam o crescimento, regressão, repouso e queda do fio de cabelo ao longo do tempo. Adaptado de Citera, 2026.

Trata-se do período de crescimento ativo, marcado por intensa proliferação celular, no qual as células da matriz capilar localizadas no bulbo exibem uma das mais elevadas taxas mitóticas do organismo, sendo responsáveis pela formação da haste do pelo e da bainha radicular interna. Durante a anágena, subdividida em seis estágios (I a VI), o FP se estende profundamente em direção à derme ou à hipoderme, ocorre a mobilização das células-tronco localizadas no bulge (protuberância) e os melanócitos iniciam a pigmentação ativa do fio capilar (ERDOĞAN, 2017; MARTEL et al., 2025; LIN; ZHU; HE, 2022).

Ao final do crescimento, o folículo entra na fase catágena, um período de transição e regressão extremamente controlado que dura cerca de 2 a 3 semanas, afetando apenas aproximadamente 1% dos fios (ERDOĞAN, 2017; LAI-CHEONG; MCGRATH, 2021). Durante a catágena, a atividade mitótica da matriz é interrompida e a parte inferior do folículo sofre apoptose (morte celular programada), reduzindo-se a um fino cordão epitelial (ERDOĞAN, 2017; MARTEL et al., 2025; WELLE, 2023). Esse processo empurra

a papila dérmica para cima, em direção ao *bulge*, enquanto a base do pelo se queratiniza para formar o pelo em clava (*club hair*), que possui uma raiz branca e endurecida (MARTEL et al., 2025; ERDOĞAN, 2017; LIN; ZHU; HE, 2022)

A fase telógena corresponde ao estágio de repouso absoluto do ciclo capilar, no qual o FP permanece quiescente por aproximadamente três meses (ou cerca de 100 dias) (ERDOĞAN, 2017; LAI-CHEONG; MCGRATH, 2021; MARTEL et al., 2025). Estima-se que entre 5% e 15% dos fios do couro cabeludo encontram-se nessa etapa, caracterizada pela presença do pelo em clava totalmente formado, porém sem crescimento ativo (ERDOĞAN, 2017; LAI-CHEONG; MCGRATH, 2021; MARTEL et al., 2025).

A conclusão do ciclo ocorre com a fase exógena, na qual o fio antigo é ativamente eliminado, possibilitando o início de um novo ciclo de crescimento (MARTEL et al., 2025; ERDOĞAN, 2017). Além disso, descreve-se a fase kenógena, um intervalo no qual o folículo permanece vazio após a queda do fio telógeno, antes que uma nova fase anágena seja desencadeada por sinais ativadores (ERDOĞAN, 2017; WELLE, 2023).

Na AGA, ocorre um encurtamento da fase anágena e um prolongamento das fases telógena e quenógena (Figura 7) resultando em fios que se tornam tão curtos que muitas vezes não chegam a penetrar a superfície da epiderme (XIAO et al., 2025; ELGOBASHY et al., 2024; IYENGAR; LI, 2025; KIDANGAZHIATHMANA et al., 2022; KATZER et al., 2019). No nível molecular, a ativação dos receptores androgênicos inibe vias essenciais para a regeneração capilar, como a sinalização Wnt/ β -catenina (Figura 8), e estimula a secreção de fatores inibitórios como a DKK-1, a prostaglandina D2 (PGD2) e a IL-6, que promovem a apoptose de queratinócitos e a inflamação (PREMANAND et al., 2018; XIAO et al., 2025; SHI et al., 2025; BELLANI et al., 2025). Além disso, a presença de microinflamação perifolicular e estresse oxidativo contribui para a fibrose do tecido ao redor do bulbo, o que pode tornar a perda capilar irreversível em estágios avançados se houver a perda de conexão com o músculo eretor do pelo (KASH et al., 2021; XIAO et al., 2025; SHI et al., 2025).

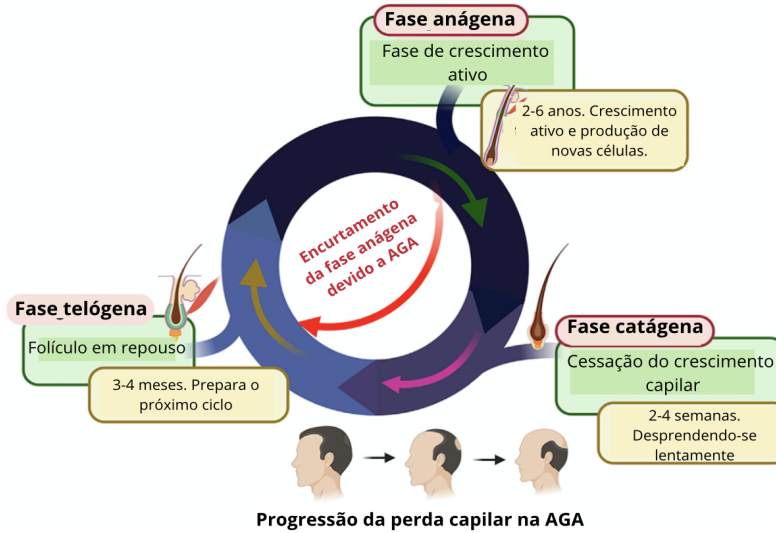


Figura 7. Efeito mediado por andrógenos no ciclo de crescimento capilar levando à AGA: a ativação excessiva do receptor androgênico (RA) resulta na miniaturização dos folículos, com encurtamento da fase anágena do ciclo capilar. As hastas capilares tornam-se mais finas e mais curtas e podem não penetrar a epiderme. Adaptado de Ntshingila et al., 2023.

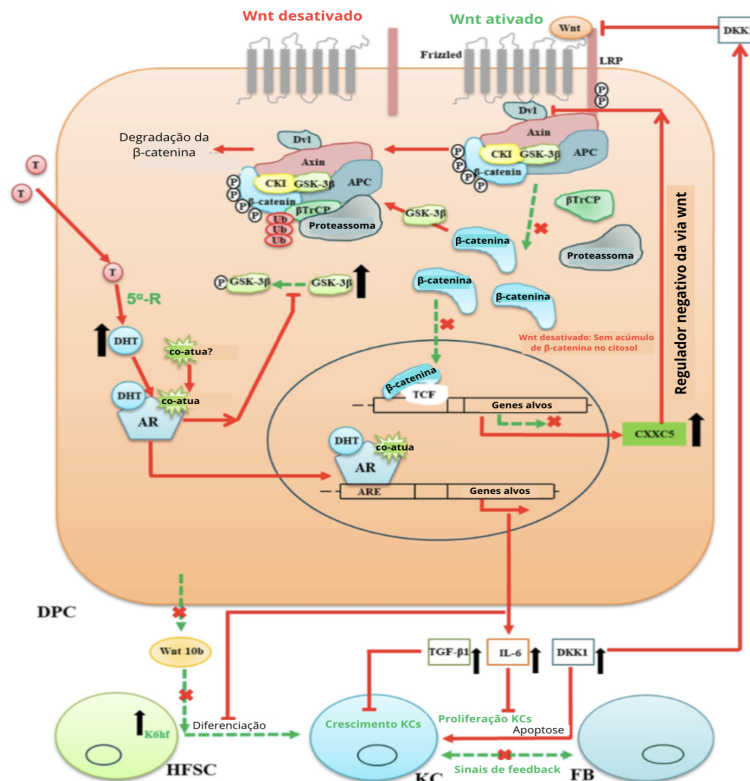


Figura 8. Modulação androgênica da sinalização Wnt/β-catenina nas PCs e seu efeito no crescimento capilar. A linha tracejada verde representa a sinalização Wnt/β-catenina normalmente ativada nas PCs e

as interações subsequentes entre o epitélio e o mesênquima, que levam à regeneração do cabelo durante o ciclo capilar. A linha contínua vermelha indica o diálogo molecular (*cross-talk*) entre a sinalização androgênica e a via Wnt/ β -catenina nas DPCs sensíveis a andrógenos do couro cabeludo calvo. O complexo ligante androgênico–receptor androgênico (DHT–RA) inibe a desfosforilação da GSK-3 β , resultando na degradação da β -catenina, e regula positivamente fatores parácrinos como TGF- β 1, IL-6 e DKK1, enquanto regula negativamente agonistas de Wnt, como Wnt10b. DKK1 é um inibidor natural da via Wnt e bloqueia a ligação do Wnt ao receptor Frizzled. CXXC5, um regulador negativo da via Wnt, também encontra-se elevado nas PCs do couro cabeludo calvo, o que interrompe a ligação de Dvl ao receptor Frizzled. PC, célula da papila dérmica; HFSC, célula-tronco do folículo piloso (FP); KC, queratinócito; FB, fibroblastos; DHT, di-hidrotestosterona; RA, receptor androgênico; GSK-3 β , glicogênio sintase quinase-3 β ; TGF- β 1, fator de crescimento transformador- β 1; IL-6, interleucina-6; DKK1, proteína 1 relacionada a Dickkopf; Dvl, Disheveled; CXXC5, proteína 5 do tipo dedo de zinco CXXC. Fonte: Premanand et al., 2018.

Os impactos clínicos e psicossociais da AGA são profundos, uma vez que o cabelo está intrinsecamente ligado à identidade, autopercepção de beleza, vigor e juventude (YENGAR; LI, 2025; ELGOBASHY *et al.*, 2024; XIAO *et al.*, 2025; CARVALHO *et al.*, 2025). Pacientes frequentemente relatam baixa autoestima, ansiedade, depressão e sofrimento emocional, sentindo-se socialmente menos atraentes ou percebidos como mais velhos, o que pode levar ao retraimento social e afetar negativamente o desempenho profissional (ELGOBASHY *et al.*, 2024; XIAO *et al.*, 2025; CARVALHO *et al.*, 2025). Além do fardo psicológico, a AGA tem sido associada a diversas comorbidades sistêmicas, incluindo síndrome metabólica, doenças cardiovasculares, resistência à insulina e maior risco de câncer de próstata em homens, sugerindo que a perda de cabelo pode ser um sinal precoce de distúrbios endócrinos e metabólicos subjacentes (ELGOBASHY *et al.*, 2024; ELLIS *et al.*, 2002; CHEN *et al.*, 2022; XIAO *et al.*, 2025; DURAN *et al.*, 2024)

Atualmente, os tratamentos convencionais aprovados e amplamente utilizados visam estabilizar a queda e promover o repovoamento parcial (ELGOBASHY *et al.*, 2024; KELLY *et al.*, 2016; ROSENTHAL *et al.*, 2024; SHI *et al.*, 2025). O MXD tópico (2% ou 5%) é a primeira linha de tratamento para ambos os sexos, atuando como um vasodilatador e abridor de canais de potássio que aumenta o fluxo sanguíneo folicular e prolonga a fase anágena (SHI *et al.*, 2025; ELGOBASHY *et al.*, 2024; STRADCZUK *et al.*, 2024; SAND *et al.*, 2023). A Finasterida oral (1 mg/dia), aprovada apenas para homens, é um inibidor seletivo da 5 α -redutase tipo II que reduz significativamente os níveis de DHT no couro cabeludo, embora apresente risco de efeitos colaterais sexuais como disfunção erétil e diminuição da libido (ENGLISH *et al.*, 2018; YENGAR; LI, 2025;

LAMA *et al.*, 2024; GUO *et al.*, 2025). A dutasterida, embora usada *off-label* na maioria dos países, inibe as isoenzimas tipo I e II e tem demonstrado eficácia superior à finasterida em termos de densidade capilar (LAMA *et al.*, 2024; POZO-PÉREZ *et al.*, 2024; STRADCZUK *et al.*, 2024; KINOSHITA-ISE *et al.*, 2023). Para mulheres, terapias hormonais com antiandrógenos como a SPL e o acetato de ciproterona são opções frequentes para bloquear receptores hormonais (WILLEMS *et al.*, 2021; ONG *et al.*, 2025; STRADCZUK *et al.*, 2024; MCELWEE *et al.*, 2025).

Terapias complementares incluem a terapia a laser de baixa intensidade, que utiliza a fotobiomodulação para estimular o metabolismo mitocondrial, o plasma rico em plaquetas, que libera fatores de crescimento para revitalizar os folículos, e o microagulhamento, que potencializa a absorção de medicamentos e ativa processos cicatriciais regenerativos (STRADCZUK *et al.*, 2024; CHAVES *et al.*, 2021; LAMA *et al.*, 2024; CARVALHO *et al.*, 2025;). Em casos refratários, o transplante capilar surge como a opção cirúrgica definitiva, redistribuindo folículos de áreas doadoras resistentes à ação hormonal para as áreas calvas (CHAVES *et al.*, 2021).

3.4 MINOXIDIL

O MXD é um fármaco cuja estrutura química fundamental é $C_9H_{15}N_5O$ e cujo nome químico é 6-(piperidin-1-il)pirimidina-2,4-diamina 3-óxido (PUBCHEM, 2026). A molécula de MXD (Figura 9) possui uma estrutura química razoavelmente rígida e é caracterizada pela presença de múltiplos grupos funcionais que participam de ligações de hidrogênio (MA *et al.*, 2024). Quanto às características físico-químicas da molécula de MXD tem-se que o seu peso molecular é 209,25 g/mol, Log P = 1,2, possui baixa solubilidade em água ($\approx 2,2$ mg/mL), porém sua solubilidade é maior em solventes orgânicos polares, como etanol, metanol e propilenoglicol (MIRZAEI *et al.*, 2018; KOUHKAN *et al.*, 2022; PUBCHEM, 2025; DRUGBANK, 2025).

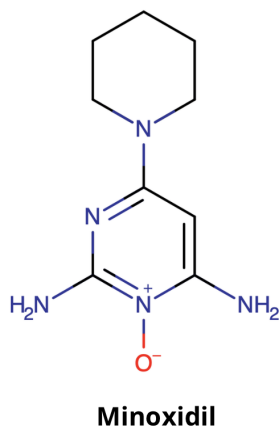


Figura 9. Estrutura química do Minoxidil (MXD). Fonte: Drugbank.com

O MXD, foi primeiramente aprovado pela FDA em 1979 para o tratamento da hipertensão refratária grave (VAÑÓ-GALVÁN *et al.*, 2021; GUPTA *et al.*, 2021; A MOHAMAD *et al.*, 2023). A sua posterior e transformadora aplicação na dermatologia, para o tratamento de desordens capilares, decorreu da observação acidental de um efeito colateral da formulação oral: a hipertricose (crescimento excessivo de pelos) (A MOHAMAD *et al.*, 2023). Quimicamente, o MXD é um pró-fármaco (MATOS *et al.*, 2023) que requer ativação metabólica pela enzima sulfotransferase para ser convertido em sua forma biologicamente ativa, o MXD sulfato (Figura 10) (OLIVEIRA *et al.*, 2022; PEREIRA *et al.* 2017; XIAO *et al.*, 2024). O principal mecanismo de ação do MXD sulfato (Figura 11) é atuar como um abridor dos canais de potássio sensíveis a ATP (K ATP)(RANDOLPH *et al.*, 2021; MAQOUD *et al.*, 2020; SANTANA, 2025), o que resulta em vasodilatação (A MOHAMAD *et al.*, 2023; SINCLAIR, 2021; SANTANA, 2025) e isso leva a um aumento no suprimento de nutrientes e de sangue rico em oxigênio para os FPs (GUPTA *et al.*, 2021). O MXD também atua liberando fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) nas células da papila dérmica e ativando a via de sinalização relacionada ao VEGF e à β -catenina. A β -catenina, acumulada no citoplasma pela via Wntless–Int (Wnt), atua como um fator de transcrição e desempenha um papel na regeneração do FP e no prolongamento da fase anágena (crescimento) do ciclo capilar (SANTANA, 2025; GUPTA *et al.*, 2021; CHOI *et al.*, 2018). Além disso, outras hipóteses da atuação do MXD incluem uma ação anti-inflamatória auxiliando no crescimento capilar

ao reduzir a microinflamação perifolicular e possivelmente até mesmo suprimir funções relacionadas ao receptor androgênico (RA) (SANTANA, 2025; GUPTA *et al.*, 2021).

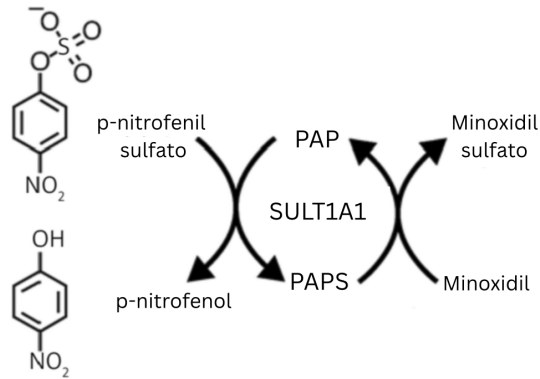


Figura 10. Reação de ativação do minoxidil (MXD) para MXD sulfato pela MXD sulfotransferase analítica. SULT1A1:sulfotransferase 1A1; PAP: 3'-fosfoadenosina-5'-fosfato; PAPS: 3'-fosfoadenosina-5'-fosfato de sulfato. Adaptado de Alhetheli *et al.*, 2023.

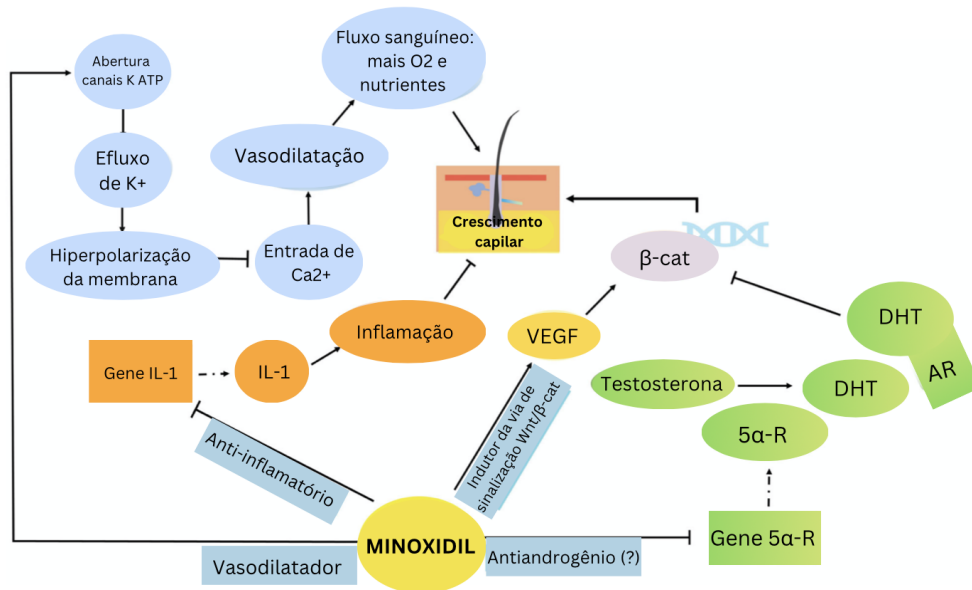


Figura 11. Mecanismo de ação do minoxidil (MXD): atua por múltiplas vias. K: potássio; IL: interleucina; Ca: cálcio; O₂: oxigênio; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular; Wnt: wingless-related integration site; β-cat: beta-catenina; 5α-R: 5 alfa-redutase; DHT: di-hidrotestosterona; AR: receptor de androgênio. Adaptado de Gupta *et al.*, 2021.

Historicamente o MXD é utilizado como solução tópica (RANDOLPH *et al.*, 2021; (BENCHEKROUN *et al.*, 2025), entretanto o uso off-label do MXD oral de baixa dose tem ganhado grande interesse, apresentando-se como uma alternativa para pacientes com baixa aderência às formulações tópicas, que podem causar prurido, escamação e, frequentemente, dermatite de contato alérgica associada ao excipiente propilenoglicol (RANDOLPH *et al.*, 2021; VILLANI *et al.*, 2021; JUNGE *et al.*, 2025; PEREIRA *et al.* 2017).

Apesar da eficácia, o MXD oral de baixa dose apresenta riscos e efeitos adversos específicos. O efeito colateral sistêmico mais comum é a hipertricose facial, observada em locais como o rosto e membros, com taxas chegando a 93% em alguns estudos com doses de 5mg por dia (VAÑÓ-GALVÁN *et al.*, 2021; STOEHR *et al.*, 2019; VILLANI *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2025; WILLIAMS; OLUKOJA; TOSTI, 2024). Outros efeitos sistêmicos incluem edema periférico, tonturas, e palpitações (VAÑÓ-GALVÁN *et al.*, 2021; VILLANI *et al.*, 2021).

Devido a essas limitações, a otimização da entrega do MXD é um foco central na farmacotécnica, buscando superar a barreira do EC (ZHAO *et al.*, 2025). A nanotecnologia, por meio de PNPs, emerge como uma alternativa promissora para otimizar a entrega do MXD, representando avanços contínuos nas formulações com esse fármaco. A nanoencapsulação polimérica promove vantagens significativas no tratamento com MXD, pois as nanopartículas são projetadas para facilitar a liberação controlada, prolongando os efeitos do fármaco e otimizando a entrega aos folículos pilosos. Tais sistemas personalizados visam efetivamente as áreas específicas, minimizando a absorção sistêmica e os efeitos colaterais associados às vias de apresentação convencionais (A MOHAMAD *et al.*, 2023; HUSSEIN *et al.*, 2024).

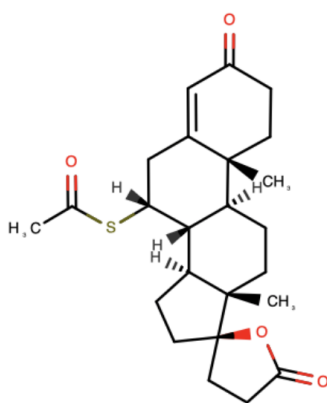
3.5 ESPIRONOLACTONA

A SPL é um fármaco esteroide sintético desenvolvido na década de 1950 a partir da observação experimental de que a progesterona atuava como um agente natriurético em cães. Lançada no mercado em 1960 sob o nome comercial Aldactone, ela foi o

primeiro antagonista de mineralocorticoide a ser comercializado, após ser sintetizada a partir do análogo SC-5233 com adições químicas para aumentar sua potência e biodisponibilidade oral (KHAN, 2021; GABBARD; HOOPES; KEMP, 2020; MEDINA; CAZARÍN; MAGAÑA, 2022).

Trata-se de um pró-fármaco lipofílico que, após a ingestão, é rapidamente metabolizado no fígado em metabólitos ativos, sendo os principais a canrenona e a 7α -tiometilespironolactona, que possuem meias-vidas significativamente mais longas (cerca de 13 a 16 horas) e medem a maior parte de seus efeitos biológicos (KHAN, 2021; BEREDA, 2022; VERBRUGGE; DAMMAN, 2020). Além disso, a biotransformação em metabólitos ativos como a canrenona ocorre diretamente no tecido cutâneo por meio de enzimas locais, como as esterases, permitindo que o fármaco atinja o alvo folicular em concentrações terapêuticas sem depender necessariamente do metabolismo hepático (DAHMANA *et al.*, 2021).

Quimicamente, ela é descrita como 7α -acetiltio-3-oxo- 17α -pregn-4-eno-21,17-carbolactona, possuindo um núcleo esteroide básico de quatro anéis com uma função γ -lactona no carbono C17 (Figura 12) (MAZUR, 2024; PIPONSKI *et al.*, 2023; JIA *et al.*, 2021). Quanto às características físico-químicas da molécula de SPL tem-se que o seu peso molecular é 416,6 g/mol, Log P = 2,78, possui solubilidade em água muito pobre (≈ 0.00198 mg/mL), refletindo sua natureza altamente hidrofóbica (JIA *et al.*, 2021; KHAN, 2021; SHAMMA; ABURAHMA, 2014; PUBCHEM, 2025; DRUGBANK, 2025).



Espironolactona

Figura 12. Estrutura química da Espironolactona (SPL). Fonte: Drugbank.com

As indicações clássicas e aprovadas pelo FDA da SPL incluem o tratamento da hipertensão arterial (essencial e resistente), do hiperaldosteronismo primário e de condições edematosas associadas à insuficiência cardíaca congestiva, cirrose hepática com ascite e síndrome nefrótica (KHAN, 2021; DEREIAH et al., 2024; BEREDA, 2022; PIPONSKI et al., 2023; LORIGO; AMARO; CAIRRAO, 2024; MORGADO-CARRASCO, 2020; ÜÇER et al., 2025). Essas indicações clínicas decorrem principalmente de seu mecanismo de ação como antagonista competitivo do receptor mineralocorticoide nos túbulos distais e coletores renais, onde bloqueia os efeitos da aldosterona, reduzindo a expressão de canais de sódio epiteliais e da bomba Na^+/K^+ -ATPase, promovendo a excreção de sódio e água com retenção de potássio (KHAN, 2021; BEREDA, 2022; MEDINA; CAZARÍN; MAGAÑA, 2022; VERBRUGGE; DAMMAN, 2020).

Na cardiologia, a SPL desempenha papel central no manejo da insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida, com impacto na redução de mortalidade e hospitalizações, além de benefícios emergentes em pacientes com fração de ejeção preservada (BEREDA, 2022; EWORUKE et al., 2022; GABBARD; HOOPES; KEMP, 2020; GAJKIEWICZ et al., 2024; MAHARJAN et al., 2025), contexto no qual o bloqueio do receptor mineralocorticoide no miocárdio e no sistema cardiovascular atenua processos de remodelamento, fibrose e retenção hídrica mediados pela aldosterona (KHAN, 2021; BEREDA, 2022; VERBRUGGE; DAMMAN, 2020).

A literatura mais recente tem ampliado as aplicações da SPL para além do uso cardiovascular (Figura 13). Em condições androgenodependentes, como a acne feminina, a SPL tem sido utilizada como alternativa aos antibióticos, reduzindo a produção de sebo e o número de lesões inflamatórias por meio de seu efeito antiandrogênico, exercido pela competição com a DHT pelos receptores androgênicos (RA) nas glândulas sebáceas, bem como pela inibição da biossíntese de andrógenos via redução da atividade de enzimas do citocromo P450 e pelo aumento dos níveis da globulina ligadora de hormônios sexuais, com consequente diminuição da testosterona livre circulante (CORVOL et al., 1975; SHAPIRO; EVRON, 1980; SHAMMA; ABURAHMA, 2014; GABBARD; HOOPES; KEMP, 2020; GAJKIEWICZ et al., 2024; MORGADO-CARRASCO, 2020).

Nesse mesmo contexto de doenças androgenodependentes, a AGA feminina tem sido tratada com SPL em doses orais de 100–200 mg/dia, apresentando eficácia na interrupção da progressão da queda capilar e no estímulo ao crescimento dos fios, efeito atribuído ao seu potente efeito antiandrogênico decorrente da competição com a DHT pelos RA nos folículos pilosos, associado à redução da biossíntese de andrógenos e ao aumento da SHBG, com consequente diminuição da testosterona livre no soro (MEDINA; CAZARÍN; MAGAÑA, 2022; SAYED et al., 2025; ALEISSA, 2023; WANG et al., 2023).

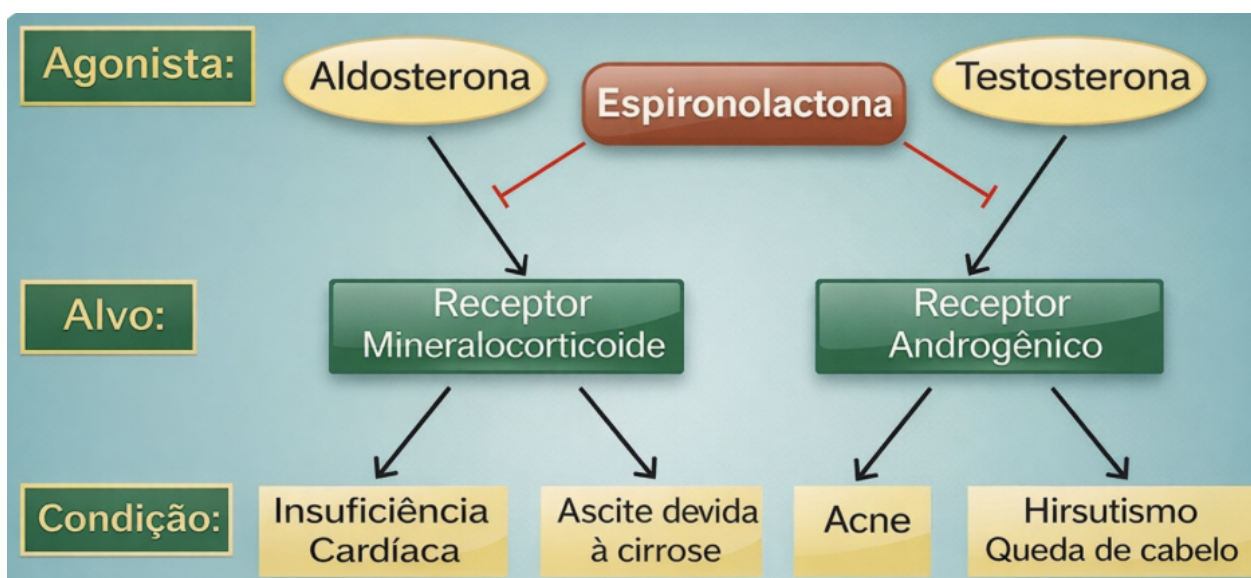


Figura 13. Alvos tradicionais da espironolactona (SPL). A SPL antagoniza as ações da aldosterona e da testosterona sobre seus respectivos receptores-alvo, o receptor mineralocorticoide e o receptor androgênico (RA). A inibição desses receptores é utilizada no tratamento das condições clínicas indicadas. Adaptado de Gabbard; Hoopes; Kemp, 2020.

Os efeitos adversos da SPL são dependentes da dose e do gênero, sendo geralmente bem tolerados em mulheres, onde a irregularidade menstrual (15%-30%) é a queixa mais comum devido às suas propriedades progestacionais e antiandrogênicas (WANG; LIPNER, 2020; MORGADO-CARRASCO, 2020; MEDINA; CAZARÍN; MAGAÑA, 2022). Outros efeitos incluem sensibilidade ou aumento mamário, tontura, dor de cabeça, poliúria e fadiga (WANG; LIPNER, 2020; MORGADO-CARRASCO, 2020; SHAPIRO; EVRON, 1980). Em homens, o uso é limitado pelo risco de ginecomastia, impotência e perda de libido (KHAN, 2021; BEREDA, 2022; MEDINA; CAZARÍN; MAGAÑA, 2022; LORIGO; AMARO; CAIRRAO, 2024). O risco de hipercalemia (excesso de potássio) é

uma preocupação clínica importante, mas estudos demonstram que ele é extremamente baixo em mulheres saudáveis com menos de 45 anos, tornando o monitoramento rotineiro de laboratório muitas vezes desnecessário nessa faixa etária (WANG; LIPNER, 2020). Atualmente, o fármaco é apresentado em comprimidos de 25 mg a 100 mg, mas existem formulações em suspensão oral líquida para pacientes com dificuldade de deglutição e pesquisas avançadas em formulações tópicas, como géis (1% a 5%) e cremes, para minimizar a absorção sistêmica (ABDEL-RAOUF *et al.*, 2020; BEREDA, 2022; SAYED *et al.*, 2025; MEDINA; CAZARÍN; MAGAÑA, 2022; WANG *et al.*, 2023).

A necessidade de contornar esses eventos adversos, associada às limitações farmacotécnicas da SPL, como a baixa solubilidade aquosa e a reduzida biodisponibilidade decorrentes de sua natureza hidrofóbica, tem impulsionado o desenvolvimento de formulações tópicas e nanotecnológicas com SPL (DEREIAH *et al.*, 2024; SHAMMA; ABURAHMA, 2014; LORIGO; AMARO; CAIRRAO, 2024). A entrega tópica é particularmente atraente para o tratamento de condições hiperandrogênicas localizadas, como acne, AGA e hirsutismo, pois permite que o fármaco penetre no EC e alcance as unidades pilosebáceas e glândulas sudoríparas, onde os receptores mineralocorticoides e androgênicos são expressos, evitando o metabolismo de primeira passagem e flutuações na concentração sanguínea (DEREIAH *et al.*, 2024; SAYED *et al.*, 2025; HASSAN *et al.*, 2025; SHAMMA; ABURAHMA, 2014; WANG *et al.*, 2023).

No entanto, a eficácia limitada dessas apresentações em penetrar profundamente na pele motivou, a partir de 2014, um crescimento significativo na pesquisa de nanocarreadores, incluindo nanopartículas lipídicas, vesiculares e poliméricas (DEREIAH *et al.*, 2024). No campo das PNPs, o uso de polímeros biodegradáveis como a poli- ϵ -caprolactona (PCL) e o copolímero de ácido metacrílico (EL100) tem se mostrado eficaz para o direcionamento folicular, destacando-se como carreadores promissores para o tratamento da acne e alopecia ((DEREIAH *et al.*, 2024).

3.6 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

As PNPs são conceituadas como partículas coloidais sólidas compostas por materiais macromoleculares, apresentando dimensões que variam tipicamente entre 1 e

1000 nm. No entanto, a literatura destaca com maior frequência a faixa de 100 a 500 nm como a mais adequada para aplicações farmacêuticas, uma vez que esse intervalo contribui para evitar a depuração rápida e favorece a travessia de barreiras biológicas (Kumar; Singh; Kaur, 2025; Gagliardi et al., 2021; Bhardwaj; Jangde, 2023; Deng et al., 2020). Essas estruturas são fundamentais no campo da nanotecnologia por permitirem que fármacos sejam dissolvidos, aprisionados, encapsulados ou adsorvidos em sua matriz polimérica, ampliando as possibilidades terapêuticas desses sistemas (Kumar; Singh; Kaur, 2025; Idrees et al., 2020; Gillella et al., 2024; Zielińska et al., 2020).

As vantagens do uso de PNPs incluem a proteção de fármacos instáveis contra a degradação enzimática e ambiental, a melhoria da solubilidade de compostos hidrofóbicos e o aumento da biodisponibilidade através de uma liberação controlada e sustentada, o que reduz a toxicidade sistêmica e a frequência de dosagem, além de possibilitar o direcionamento (targeting) para tecidos ou células específicas por meio de funcionalização de superfície (KUMAR; SINGH; KAUR, 2025; BHARDWAJ; JANGDE, 2023 GILLELLA *et al.*, 2024; BEGINES *et al.*, 2020; EL-SAY; EL-SAWY, 2017).

Os polímeros constituem a estrutura fundamental das PNPs, servindo como matrizes ou cascas protetoras que permitem o transporte e a liberação controlada de fármacos no organismo (KUMAR; SINGH; KAUR, 2025; ELMOWAFY *et al.*, 2023; SUR *et al.*, 2019). A série Eudragit® representa uma classe de polímeros sintéticos baseados em copolímeros de acrilato e metacrilato amplamente utilizados por sua biocompatibilidade e versatilidade iônica (DENG *et al.*, 2020). O Eudragit L100 (L100), por exemplo, é um polímero aniônico sensível ao pH, frequentemente empregado em sistemas de liberação direcionada ao cólon ou para proteção entérica, enquanto o Eudragit E100 (E100) e outros da série, como o RS100, são valorizados pela capacidade de modificar o perfil de liberação e interagir com membranas biológicas (DENG *et al.*, 2020; KUMAR; SINGH; KAUR, 2025; ZIELIŃSKA *et al.*, 2020).

Surfactantes não iônicos como o álcool polivinílico (PVA) e o Tween 80 são considerados padrão na estabilização de PNPs, por conferirem redução da tensão interfacial e estabilização estérica com boa biocompatibilidade, permitindo ainda controlar o tamanho e a distribuição de tamanho das partículas (CORTÉS *et al.*, 2021). O PVA também tem sido selecionado, em estudos de desenvolvimento de nanopartículas

pH-responsivas com outros Eudragit (como S100 e RLPO), como um dos surfactantes de melhor desempenho em termos de tamanho de partícula, PDI, EE e estabilidade de suspensão, reforçando seu papel como excipiente de referência nesse tipo de sistema (HAJBA-HORVÁTH *et al.*, 2021; ULLAH *et al.*, 2022).

Em formulações de nanopartículas de L100 para encapsular fármacos pouco solúveis, Tween 80 foi identificado como o surfactante com melhor capacidade de estabilização, com concentração crítica em torno de 0,25%, permitindo obter partículas com tamanho nanométrico e elevada EE (TORRES-FLORES; NAZENDE; EMRE, 2019).

O desempenho biológico dessas partículas é fortemente influenciado por suas propriedades físico-químicas, onde o tamanho da partícula determina o mecanismo de captação celular (endocitose para partículas menores que 100 nm e fagocitose para as maiores) e o tempo de circulação no sangue, evitando a filtração renal (GAGLIARDI *et al.*, 2021; FLOYD; GURNANI; RHO, 2025; ELMOWAFY *et al.*, 2023; BANIK; FATTAHI; BROWN, 2015).

A estabilidade coloidal desses nanossistemas está diretamente relacionada ao potencial zeta, que corresponde ao potencial elétrico na superfície de cisalhamento hidrodinâmico da dupla camada elétrica que envolve a partícula. Esse parâmetro reflete o potencial na interface em que o fluido adjacente deixa de se deslocar conjuntamente com a partícula durante fenômenos eletrocinéticos, como a eletroforese. Valores de potencial zeta com elevado módulo estão, em geral, associados a uma forte repulsão eletrostática entre partículas e, conseqüentemente, a uma maior estabilidade coloidal (SABBAH *et al.*, 2016). Além disso, a morfologia e a forma das partículas (esferas, bastões ou elipses) afetam a adesão celular e o transporte através de tecidos (GAGLIARDI *et al.*, 2021; BANIK; FATTAHI; BROWN, 2015).

Para a obtenção desses sistemas, diversas técnicas de preparo são empregadas, como a nanoprecipitação (ou deslocamento de solvente) (Figura 14), que é um método simples e rápido baseado na deposição interfacial de um polímero pré-formado após a difusão de um solvente orgânico miscível em uma fase aquosa (KUMAR; SINGH; KAUR, 2025; ZIELIŃSKA *et al.*, 2020; BANIK; FATTAHI; BROWN, 2015). Para preparar as PNPs por essa técnica uma fase orgânica composta pelo polímero e por um solvente orgânico é introduzida na fase aquosa, a qual pode conter um estabilizante, como um surfactante.

A adição gota a gota da fase orgânica à fase aquosa, sob agitação moderada, resulta na formação de nanopartículas. Solventes orgânicos de fácil evaporação, como etanol, metanol, acetona, hexano ou cloreto de metileno, devem ser escolhidos como solventes do polímero (PULINGAM *et al.*, 2022). Após a mistura das fases, a amostra deve ser levada a rotaevaporação para remoção do solvente e a obtenção da suspensão de nanopartículas (RIVAS *et al.*, 2017).

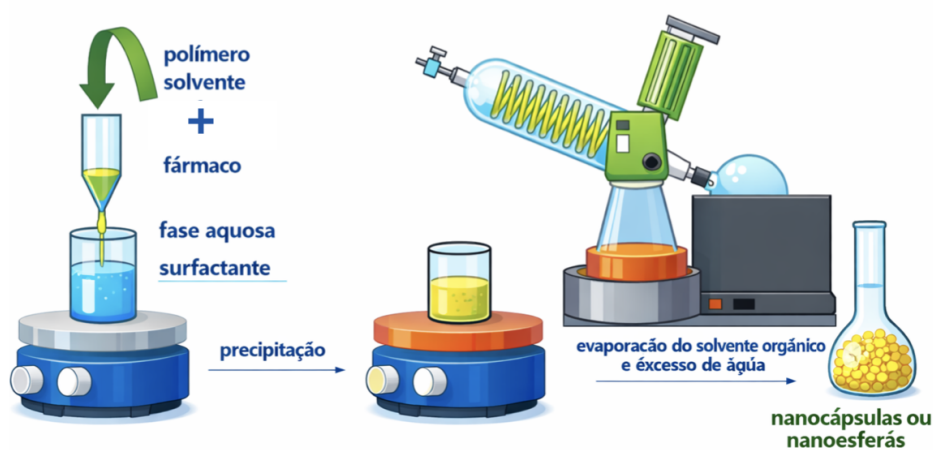


Figura 14. Preparação de nanopartículas poliméricas (PNPs) por nanoprecipitação. Adaptado de Guterres; Alves; Pohlmann, 2007 com auxílio de ferramenta de inteligência artificial (IA) (ChatGPT, OpenAI).

Outros métodos convencionais incluem a evaporação do solvente, baseada na formação de emulsões simples ou duplas seguida da remoção do solvente volátil, e o método de salting-out que separa um solvente hidromiscível da água através de um efeito de eletrólitos (KUMAR; SINGH; KAUR, 2025; GAGLIARDI *et al.*, 2021; ZIELIŃSKA *et al.*, 2020). Técnicas como a diálise, que permite a formação de partículas pequenas e homogêneas através de uma barreira semipermeável, e a gelificação iônica, utilizada principalmente para polímeros hidrofílicos como a quitosana através de interações eletrostáticas com contra-íons, também são amplamente descritas (KUMAR; SINGH; KAUR, 2025; CASTRO; COSTA; CAMPOS, 2020; BEACH *et al.*, 2024; SUR *et al.*, 2019).

A caracterização detalhada das PNPs é essencial e envolve o uso de espalhamento de luz dinâmico (DLS) para medir o tamanho hidrodinâmico e o PDI, além de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET/TEM) para avaliar a

morfologia superficial e a estrutura interna (GAGLIARDI *et al.*, 2021; KUMAR; SINGH; KAUR, 2025; ZIELIŃSKA *et al.*, 2020). As propriedades térmicas e a estabilidade do estado cristalino do fármaco são analisadas por calorimetria exploratória de varredura (DSC) e análise termogravimétrica (TGA), enquanto a composição química e as interações moleculares são confirmadas por espectroscopia no infravermelho (FTIR) e ressonância magnética nuclear (RMN) (GESZKE-MORITZ; MORITZ, 2024; GILLELLA *et al.*, 2024; ZIELIŃSKA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2015). A EE e o carregamento de fármaco (DL) são determinados para garantir a eficácia terapêutica do sistema (BARROS *et al.*, 2024 ;ZIELIŃSKA *et al.*, 2020; ABDEL-RASHID *et al.*, 2022). Apesar dos avanços significativos, as PNPs enfrentam lacunas no conhecimento que justificam a realização de novos estudos, especialmente no que tange à aplicação cutânea e ao tratamento de doenças foliculares como a alopecia e a acne (MATOS *et al.*, 2023; FERREIRA-NUNES *et al.*, 2021)

Embora seja reconhecido que PNPs podem formar reservatórios cutâneos e se acumular preferencialmente nos FPs, promovendo uma liberação prolongada de fármacos, ainda há uma carência de estudos que avaliem de forma isolada o efeito do tamanho de partícula na permeação cutânea e no direcionamento folicular. Em especial, observa-se a ausência de investigações que utilizem o mesmo polímero e o mesmo fármaco, controlando rigorosamente essa variável (FERREIRA-NUNES *et al.*, 2021; SALEEM *et al.*, 2022; ELMOWAFY *et al.*, 2023). Dessa forma, torna-se necessária a identificação da faixa de tamanho ideal capaz de otimizar o transporte de ativos para as unidades pilosebáceas, contribuindo para o desenvolvimento de terapias dermatológicas mais eficazes e seguras (FERREIRA-NUNES *et al.*, 2021; SALEEM *et al.*, 2022; GUTERRES; ALVES; POHLMANN, 2007).

3.7 REDES NEURAIIS ARTIFICIAIS

O ML é um subcampo fundamental da inteligência artificial (IA) que permite que sistemas computacionais aprendam a partir de dados e aprimorem seu desempenho ao longo do tempo, sem a necessidade de serem explicitamente programados para cada tarefa específica (KAPOOR *et al.*, 2024;.MOUCHLIS *et al.*, 2021; JENA *et al.*, 2024;

BHUJEL *et al.*, 2025; GUPTA *et al.*, 2021). Diferentemente de abordagens baseadas em regras rígidas e predefinidas, os algoritmos de ML utilizam métodos estatísticos e técnicas de modelagem matemática para identificar padrões complexos em grandes conjuntos de dados, possibilitando a realização de previsões e a tomada de decisões de forma autônoma (KAPOOR *et al.*, 2024; MOUCHLIS *et al.*, 2021; D, 2025; GHOLAP *et al.*, 2024; RAO *et al.*, 2024; WANG *et al.*, 2025; PRIYA; BHATT, 2023).

De maneira geral, o ML pode ser classificado em três categorias principais: aprendizado supervisionado, no qual os modelos são treinados a partir de dados rotulados com resultados conhecidos; aprendizado não supervisionado, voltado à identificação de estruturas ou agrupamentos ocultos em dados não rotulados; e aprendizado por reforço, que busca a otimização de decisões por meio da interação com o ambiente e de sistemas de recompensas (KAPOOR *et al.*, 2024; GUPTA *et al.*, 2021; AMBREEN *et al.*, 2025; JENA *et al.*, 2024; VORA *et al.*, 2023; VATANSEVER *et al.*, 2020; RAO *et al.*, 2024)

A incorporação dessas técnicas à nanotecnologia representa uma abordagem promissora e racional para o desenho e o desenvolvimento acelerado de sistemas de liberação de fármacos, contribuindo para superar as limitações inerentes aos métodos tradicionais de tentativa e erro, frequentemente lentos, dispendiosos e pouco previsíveis (D, 2025; DEY *et al.*, 2024; SEROV; VINOGRADOV, 2022;.DAS; J, 2023). Ao permitir o processamento e a análise de bases de dados extensas, muito além da capacidade humana, o ML facilita a triagem de materiais e a identificação rápida de formulações e candidatos promissores, reduzindo significativamente o tempo associado à etapa de desenvolvimento (D, 2025; DEY *et al.*, 2024; CHOU *et al.*, 2025; JENA *et al.*, 2024; SEROV; VINOGRADOV, 2022).

Nesse contexto, as RNAs, inspiradas na organização e no funcionamento dos neurônios biológicos, destacam-se como ferramentas capazes de modelar relações complexas e não lineares entre variáveis de formulação e respostas biológicas, sem a necessidade de equações matemáticas explicitamente definidas ou de conhecimento detalhado a priori sobre o sistema (KAPOOR *et al.*, 2024; VORA *et al.*, 2023; ERANTI *et al.*, 2025; SEROV; VINOGRADOV, 2022; VILLASEÑOR-CAVAZOS; TORRES-VALLADARES; LOZANO, 2022; HASSANZADEH; ATYABI; DINARVAND, 2019).

As RNAs são sistemas computacionais projetados para imitar a estrutura e o funcionamento do cérebro humano e do sistema nervoso central (BHUJEL *et al.*, 2025; KAPOOR *et al.*, 2024; JENA *et al.*, 2024; ERANTI *et al.*, 2025; JING *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2025). Sua arquitetura básica (Figura 15) é composta por camadas interconectadas de unidades de processamento, denominadas neurônios artificiais ou nós, organizadas em uma camada de entrada, uma ou mais camadas ocultas e uma camada de saída (SAHU *et al.*, 2025; AMBREEN *et al.*, 2025; ISLAM *et al.*, 2024; VATANSEVER *et al.*, 2020; JING *et al.*, 2018; VILLASEÑOR-CAVAZOS; TORRES-VALLADARES; LOZANO, 2022). O número de neurônios nas camadas de entrada e de saída é determinado pela quantidade de variáveis independentes e dependentes do modelo, respectivamente, enquanto o número de camadas ocultas e de neurônios em cada uma delas depende da complexidade do problema a ser resolvido (ISLAM *et al.*, 2024; JING *et al.*, 2018; HE *et al.*, 2025; HASSANZADEH; ATYABI; DINARVAND, 2019).

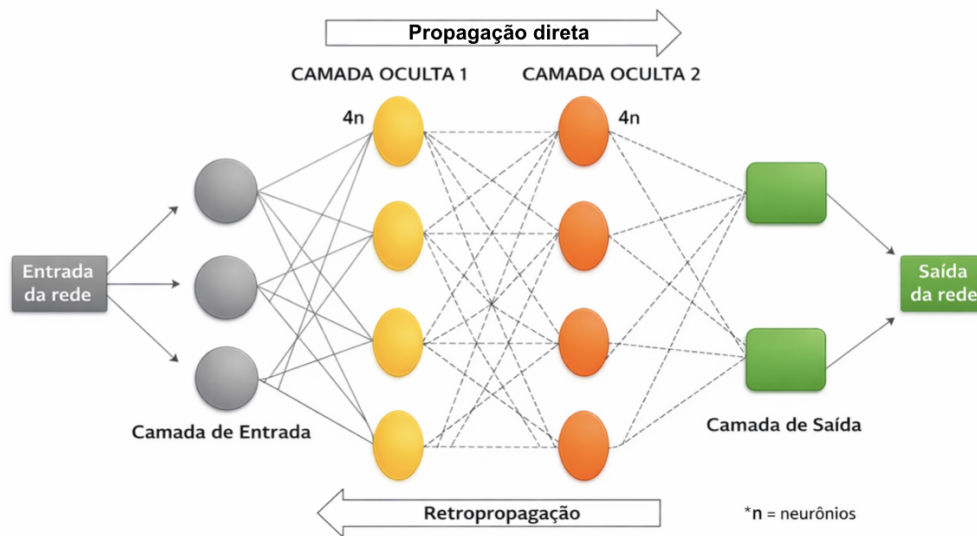


Figura 15. Representação esquemática de uma arquitetura de rede neural artificial (RNA). O modelo é composto por uma camada de entrada, múltiplas camadas ocultas e uma camada de saída. Cada neurônio de uma camada está conectado aos neurônios da camada subsequente, permitindo que a rede aprenda relações complexas e não lineares entre as características de entrada e os alvos de saída. Fonte: Sahu et al., 2025.

O processamento da informação em cada neurônio ocorre por meio da soma ponderada dos sinais de entrada, multiplicados por pesos ajustáveis, à qual se adiciona um termo de viés (bias)(ISLAM *et al.*, 2024; JING *et al.*, 2018; VILLASEÑOR-CAVAZOS;

TORRES-VALLADARES; LOZANO, 2022; TRIPATHY *et al.*, 2024; HASSANZADEH; ATYABI; DINARVAND, 2019). O valor resultante é então submetido a uma função de ativação não linear, como a função sigmoide, a unidade linear retificada ou a tangente hiperbólica, responsável por determinar se e em que intensidade o sinal será propagado para a camada subsequente (ISLAM *et al.*, 2024; JING *et al.*, 2018; HE *et al.*, 2025; STASZAK *et al.*, 2021; VILLASEÑOR-CAVAZOS; TORRES-VALLADARES; LOZANO, 2022; KAMAL *et al.*, 2025).

O processo de aprendizado das RNAs é conduzido por algoritmos de otimização, como a retropropagação do erro associada ao gradiente descendente, que ajustam iterativamente os pesos e os vieses da rede com o objetivo de minimizar o erro entre os valores previstos pelo modelo e os dados experimentais observados durante o treinamento (ERANTI *et al.*, 2025; JING *et al.*, 2018; GHOLAP *et al.*, 2024; GUPTA *et al.*, 2021; SHAHIWALA; QAWOOGHA; FARUQUI, 2023; SAHU *et al.*, 2025; VILLASEÑOR-CAVAZOS; TORRES-VALLADARES; LOZANO, 2022; JAHANDOOST *et al.*, 2024).

Quando as redes neurais apresentam múltiplas camadas ocultas, elas configuram a base do chamado aprendizado profundo, permitindo a extração de representações dos dados em níveis progressivamente mais abstratos (KAPOOR *et al.*, 2024; JING *et al.*, 2018; SAHU *et al.*, 2025; STASZAK *et al.*, 2021). No contexto do desenvolvimento de nanocarreadores, diferentes arquiteturas de redes neurais atendem a propósitos específicos para lidar com a complexidade de sistemas em escala nanométrica (KAPOOR *et al.*, 2024; RAO *et al.*, 2024; DAS; J, 2023).

A principal vantagem das RNAs aplicadas à nanotecnologia reside em sua capacidade de modelar relações não lineares complexas entre variáveis de formulação — como a concentração de polímeros, a razão fármaco/polímero e diversas condições de processamento — e as respostas físico-químicas e biológicas do sistema, incluindo EE, tamanho de partícula, potencial zeta e padrões de biodistribuição (DAS; J, 2023; KAPOOR *et al.*, 2024; BAE *et al.*, 2025; ERANTI *et al.*, 2025; RAO *et al.*, 2024; SHAHIWALA; QAWOOGHA; FARUQUI, 2023; WANG *et al.*, 2025).

Dessa forma, as RNAs superam as limitações de modelos lineares tradicionais e metodologias de superfície de resposta ao lidar com atributos críticos de qualidade, permitindo a predição precisa de parâmetros fundamentais para o sucesso de sistemas

de liberação direcionada (KAPOOR *et al.*, 2024; COLOMBO, 2020; SHAHIWALA; QAWOOGHA; FARUQUI, 2023). Essa precisão é essencial no desenvolvimento acelerado de PNPs, auxiliando no design racional de formulações para aplicações específicas, como a entrega tópica e o direcionamento folicular, onde o controle rigoroso do tamanho e das propriedades superficiais determina a eficácia terapêutica (ERANTI *et al.*, 2025; COLOMBO, 2020; SEROV; VINOGRADOV, 2022; SHAHIWALA; QAWOOGHA; FARUQUI, 2023; SILVEIRA *et al.*, 2025).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

O Tween 80® (Tween, Polissorbato 80, lote 58767) e o álcool polivinílico (PVA, lote K51426053) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (França). O L100 (Copolímero de ácido metacrílico-metacrilato de metila (1:1), lote B160703010) e o E100 (E100) (Copolímero básico de metacrilato butilado e de metacrilato amino NF, lote B130401503) foram doados pela empresa Evonik (Darmstadt, Alemanha). A espironolactona (SPL, lote 24|14-B012-204062) foi comprada da farmácia plenitude (Goiânia, Brasil). O minoxidil (MXD, lote 20141003) foi obtido da Jintan Qianyao Farmacêutica (China). A água ultrapura foi obtida pelo sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Illkirch-Graffenstaden, França). A acetonitrila e o metanol foram utilizados nas análises cromatográficas, sendo o metanol também empregado no preparo das nanopartículas; ambos os solventes foram adquiridos da J. T. Baker (Phillipsburg, NJ, EUA). O Vivaspin® foi adquirido da Sartorius (Goettingen, Alemanha). As peles de orelhas de suínos utilizadas nos ensaios de penetração cutânea foram obtidas em um abatedouro local (SuinoBom, Ceilândia, Brasília/DF). Para o preparo do tampão foram adquiridos o fosfato de sódio nas formas monobásica e dibásica (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), cloreto de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e propilenoglicol (Dinâmica, São Paulo, Brasil). As fitas adesivas utilizadas na técnica de tape stripping diferencial foram da 3M, n° 845 (Estados Unidos). A cola de cianoacrilato utilizada para a remoção das unidades

pilossebáceas foram da Tekbond®, nº 793 (São Paulo, Brasil). Filtros de nylon pré-limpos, de diâmetro 25 mm e poro 0,45 µm, hidrofóbicos, foram comprados da Analítica (São Paulo, Brasil).

4.2 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DO MINOXIDIL E DA ESPIRONOLACTONA COM POLÍMEROS E EXCIPIENTES

4.2.1 Preparo das amostras

Foram preparadas misturas binárias na proporção 1:1 (m/m) da SPL e do MXD com os polímeros E100 e L100 e os surfactantes PVA e Tween. Todas as amostras foram cuidadosamente armazenadas em embalagens Eppendorf e misturadas durante 3 minutos com o auxílio de um agitador tipo vortex (IKA, LAB DANCER S032, Staufen, Alemanha). Tanto as misturas físicas, quanto cada componente individual foram submetidas aos ensaios de análise térmica por DSC e TGA.

4.2.2 Análise térmica

Amostras de 3 a 5 mg foram pesadas em pans de alumínio, fechadas e analisadas sob atmosfera de nitrogênio ($50 \text{ mL}/\text{min}^{-1}$) em uma faixa de aquecimento de 25 a 250°C, com uma taxa de aquecimento de 10°C/min. As curvas de DSC foram obtidas utilizando-se um DSC-60A (Shimadzu, Kyoto, Japão) e os gráficos foram elaborados no software OriginPro 2023b (OriginLab Corp., Northampton, MA, EUA).

A porcentagem de cristalinidade foi calculada com base na entalpia de fusão do fármaco, considerando a quantidade de fármaco em cada mistura (Equação 2) (MALAQUIAS et al., 2018):

$$\text{Cristalinidade do fármaco (\%)} = (\Delta mH / \Delta mH_{\dagger}) \times 100$$

(Equação 2)

Em que ΔmH é a entalpia de fusão do fármaco nas misturas (considerando a fração mássica do fármaco, ou seja, 50% p/p), e ΔmH_{\dagger} é a entalpia de fusão do fármaco puro.

Para a avaliação dos processos de decomposição foram feitas análises por meio da técnica de TGA. Inicialmente foram pesadas cerca de 3 a 5 mg de amostra em pans de platina (não herméticas). As análises foram realizadas utilizando um TGA-60 (Shimadzu, Kyoto, Japão) e os gráficos foram elaborados no software OriginPro 2023b (OriginLab Corp., Northampton, MA, EUA). Estas amostras foram analisadas sob atmosfera de nitrogênio (50 mL/min-1), a uma taxa de aquecimento de 10°/min, em uma faixa de aquecimento de 20 a 500°C. A integração dos eventos foi realizada por meio da avaliação da primeira derivada das curvas de perda de massa obtidas por TGA.

4.3 PRODUÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Inicialmente, foi produzido um grupo experimental composto por 30 formulações distintas (tabela 1), que foram as mesmas tanto para as PNP's contendo MXD quanto para aquelas contendo SPL, com a quantidade de fármaco fixado em 20 mg para ambos. Essas formulações iniciais foram projetadas com variações aleatórias na composição, na quantidade dos excipientes e nos métodos de produção. Esse conjunto inicial de formulações foi utilizado para treinar as RNAs, permitindo aos modelos aprenderem o comportamento das PNP's para cada fármaco, incluindo a ocorrência de formação e suas propriedades físico-químicas.

Tabela 1. Composição quantitativa e variáveis de produção das 30 formulações iniciais de nanopartículas poliméricas (PNPs) para MXD e SPL.

Formulação	Composição						Variáveis de produção		
	Fase orgânica			Fase aquosa			Gotejamento da fase orgânica na fase aquosa	Agitação da fase aquosa	Temperatura
	L100 (mg)	E100 (mg)	Solvente (mL)	PVA (mg)	Tween (mg)	Água (mL)			
1	80	0	5	0	50	15	Bureta	Ultraturrax	25°C
2	20	0	5	15	35	15	Verter	Ultraturrax	50°C
3	40	0	5	25	25	15	Bureta	Magnética	25°C
4	0	80	5	35	15	15	Verter	Magnética	50°C
5	0	40	5	50	0	15	Bureta	Ultraturrax	50°C

6	80	0	15	0	50	5	Verter	Ultraturrax	50°C
7	40	0	15	15	35	5	Bureta	Magnética	25°C
8	0	80	15	25	25	5	Verter	Magnética	50°C
9	0	40	15	35	15	5	Bureta	Ultraturrax	50°C
10	0	20	15	50	0	5	Verter	Ultraturrax	25°C
11	35	0	8	0	50	12	Bureta	Magnética	25°C
12	20	0	8	15	35	12	Verter	Magnética	25°C
13	75	0	8	25	25	12	Bureta	Ultraturrax	50°C
14	0	75	8	35	15	12	Verter	Ultraturrax	25°C
15	0	20	8	50	0	12	Bureta	Magnética	25°C
16	35	0	12	0	50	8	Verter	Magnética	50°C
17	20	0	12	15	35	8	Bureta	Ultraturrax	25°C
18	0	35	12	25	25	8	Verter	Ultraturrax	50°C
19	0	20	12	35	15	8	Bureta	Magnética	50°C
20	0	75	12	50	0	8	Verter	Magnética	50°C
21	20	0	10	0	50	10	Bureta	Ultraturrax	25°C
22	75	0	10	15	35	10	Verter	Ultraturrax	25°C
23	80	0	10	25	25	10	Bureta	Magnética	25°C
24	0	80	10	35	15	10	Verter	Magnética	50°C
25	0	40	10	50	0	10	Bureta	Ultraturrax	50°C
26	80	0	10	20	30	10	Verter	Ultraturrax	25°C
27	40	0	10	45	5	10	Bureta	Magnética	50°C
28	0	75	10	30	20	10	Verter	Magnética	25°C
29	0	40	10	5	45	10	Bureta	Ultraturrax	50°C
30	0	20	10	40	10	10	Verter	Ultraturrax	25°C

Modelos de ML capazes de generalizar diferentes processos como a modelo de RNA aqui utilizada, possui melhor capacidade de precisão quando apoiadas por amostras de entrada balanceadas durante a calibração do modelo (BENES, 2017). O desequilíbrio desses dados, isto é, uma discrepância no número de exemplos por classe de um conjunto de dados, deteriora o desempenho dos classificadores, uma vez que eles são menos capazes de aprender as características das classes menos representadas (DOMINGUES, 2018) enquanto que as classes majoritárias são favorecidas apresentando maior taxa de reconhecimento (VABALAS, 2019).

Diante disso, esse primeiro bloco de formulações foi desenvolvido de modo a manter um balanceamento representativo entre as variáveis estudadas. Assim, foram testadas quantidades iguais de formulações contendo polímero aniônico (L100) e polímero catiônico (E100), bem como uma distribuição equitativa das massas (em miligramas) de cada tipo de polímero entre as formulações. De forma análoga, adotou-se a mesma estratégia para os tensoativos sólido (PVA 40-88) e líquido (Tween 80), assim como para os volumes das fases aquosa e orgânica, conforme apresentado no Apêndice A.

Além disso, o tipo de gotejamento que poderia ser vertendo ou gotejando com a bureta e o tipo de agitação no ultraturrax ou na placa de agitação magnética também seguiram o princípio do balanceamento, e foram distribuídos igualmente entre as formulações.

As demais formulações produzidas para MXD e SPL foram obtidas a partir das simulações realizadas pela RNA. Essas formulações foram geradas de forma específica para cada fármaco, com base no comportamento apresentado pelas PNP's com MXD ou SPL à medida que a RNA era progressivamente alimentada com novas informações provenientes das formulações produzidas ao longo do estudo. Os detalhes dessas formulações podem ser consultados nos Apêndices B e C.

A técnica de preparo das PNP's produzidas foi realizada da seguinte forma (Figura 16): inicialmente, pesou-se uma quantidade fixa de 20 mg do fármaco (SPL ou MXD) e quantidades variáveis do polímero E100 ou L100 que foram solubilizados em metanol. Foi preparada uma fase aquosa de água ultrapura contendo os tensoativos Tween 80 e/ou PVA. Após a completa solubilização dos componentes de cada fase, a fase orgânica

foi adicionada à fase aquosa. Nessa etapa, diferentes variáveis experimentais eram empregadas, incluindo a utilização da fase aquosa aquecida a 50 °C ou à temperatura ambiente, bem como os modos de adição da fase orgânica (verter diretamente ou gotejar com bureta), sob agitação magnética ou mecânica. Em seguida, a dispersão obtida era submetida à remoção do metanol em evaporador rotativo (Buchi, Rotavapor R-100) sob pressão reduzida, utilizando bomba de vácuo (Buchi, Vacuum Pump V-100), com banho de circulação a frio (Buchi, Recirculating Chiller F-308) mantido a 4 °C e banho de aquecimento (Buchi, Heating Bath B-100) ajustado a 50 °C. Após a evaporação do solvente, foram obtidas nanopartículas dispersas em meio líquido.

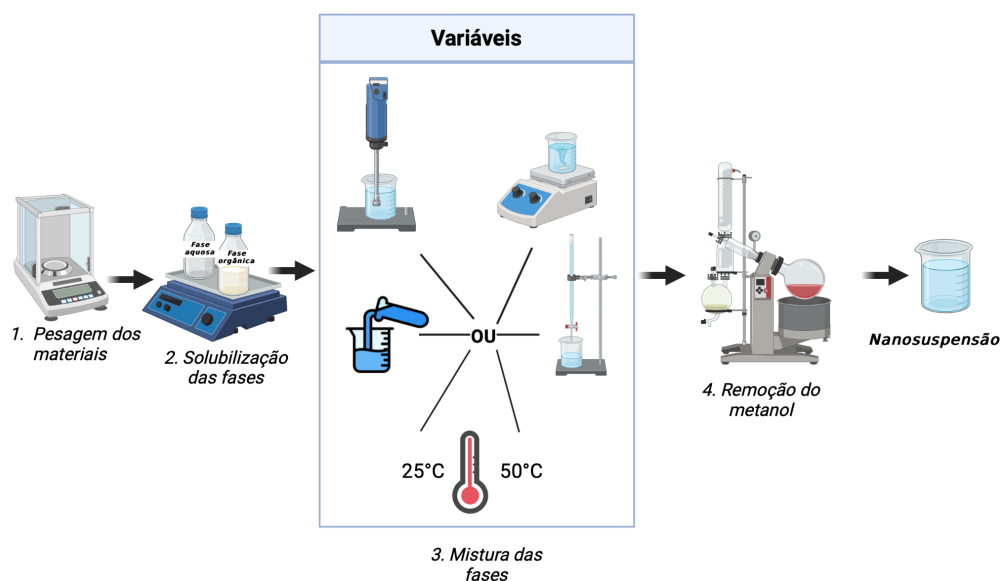


Figura 16. Esquema representativo do processo de obtenção de nanopartículas poliméricas (PNPs) pelo método de nanoprecipitação. Fonte: Autoria própria, criado com BioRender.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

4.4.1 Diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade (PDI) e Potencial Zeta

O diâmetro hidrodinâmico médio e o PDI das PNPs foram determinados pelo espalhamento da luz dinâmica (DLS) utilizando o equipamento Zetasizer Nano (NANO ZS90, Malvern, Worcestershire, Reino Unido). O potencial zeta foi analisado pela verificação da mobilidade eletroforética utilizando o mesmo equipamento. A diluição

utilizada para preparo das amostras foi produzida adicionando-se 100 µL de cada amostra preparada a 900 µL de água ultrapura e levada para análise.

4.4.2 Curva padrão de espironolactona (SPL) e minoxidil (MXD) pelo método espectroscópico UV

As curvas dos fármacos SPL e MXD foram realizadas em triplicata. Pesou-se precisamente 10,0 mg do fármaco e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com metanol obtendo-se a solução estoque de 100 µg/ml. A partir dessa solução estoque, pipetaram-se 0,05 mL, 0,25 mL, 0,5 mL, 0,75 mL, 1 mL, 1,5mL, 2mL, 2,5 mL e 3,0 mL para balões volumétricos de 10 mL produzindo concentrações de 0,5 a 30 µg/ml. Em seguida, traçou-se a curva de calibração a 239 nm para SPL e 230 nm para MXD, usando a concentração no eixo X e a absorbância no eixo Y.

4.4.3 Eficiência de encapsulação (EE)

A EE foi determinada pelo método indireto, iniciando-se pela centrifugação da suspensão das PNPs em um dispositivo com tamanho de poro definido em 10kDa (Vivaspin 2, 100000, MWCO HY, Sartorio, Goettingen, Alemanha). Destarte, as amostras foram centrifugadas por 20 minutos a 4000 rpm em uma centrífuga (KASVI,Paraná, Brasil). O filtrado era então analisado em um espectrofotômetro UV-Vis (SHIMADZU, Quioto, Japão) no comprimento de onda de 239 nm para as formulações com SPL e 285 nm para as formulações com MXD, que consiste no comprimento de onda de máxima absorção desses fármacos em metanol. Com isso, a concentração de fármaco encapsulado foi determinada pela diferença entre a concentração inicial de fármaco adicionada à formulação (FT) e a concentração de fármaco não encapsulado (FO) medido no filtrado após a centrifugação (LEMES, 2017). A equação a seguir representa a forma como a EE foi calculada:

$$EE\% = (FT - FO) / FT] \times 100$$

onde: EE% é determinada em porcentagem; FO é a concentração de MXD ou SPL no filtrado analisado; e FT é a concentração do fármaco que foi inicialmente colocada para preparo das nanopartículas.

4.4.4 Morfologia

A análise morfológica das nanopartículas selecionadas foi feita por microscopia eletrônica de transmissão (MET), utilizando equipamento modelo JEM 1011 (JEOL, Tóquio, Japão), instalado no Departamento de Biologia Celular do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília. As nanopartículas foram diluídas em água (1:50 v/v) e depositadas em grade de cobre revestida com “formvar” (Electron Microscopy Sciences, PA, EUA). Após secagem por aproximadamente 3 min em temperatura ambiente, 3 µL de solução de acetato de uranila a 0,5% (p/v) foi adicionada sob a grade e submetida a secagem por mais 3 min. Ao final desse tempo, o excesso de líquido foi removido com papel filtro. As imagens foram capturadas, em magnitude de aumento de até 8000 vezes, com câmera GATAN BioSacan (modelo 820, GATAN, PA, EUA), utilizando o software Digital Micrograph 3.7.5 (GATAN, PA, EUA).

4.4.5 Análise do potencial hidrogeniônico (pH)

Os valores de pH das nanopartículas selecionadas foram medidos pela imersão direta do eletrodo nas amostras não diluídas. O eletrodo esteve conectado a potenciômetro digital (Digimed, modelo DM-22) devidamente calibrado com soluções tampão pH 4,00 e 7,00 à temperatura de 25°C. As análises foram realizadas em triplicata para cada formulação.

4.5 ESTUDO DE ESTABILIDADE

As PNP's obtidas foram submetidas a condições controladas de armazenamento, sendo mantidas sob refrigeração a 4 °C, em recipientes hermeticamente fechados. Após 90 dias de armazenamento, as amostras foram avaliadas quanto à presença ou ausência de precipitados. As formulações que permaneceram fisicamente estáveis nesse período

foram novamente analisadas em relação ao diâmetro hidrodinâmico, ao PDI, ao potencial zeta e à EE.

4.6 DESENVOLVIMENTO DO MODELO PREDITIVO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS COM MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA

Neste trabalho, foram desenvolvidos modelos de ML capazes de prever a formação — ou não — de PNPs contendo MXD e SPL, bem como suas propriedades físico-químicas, tais como tamanho de partícula, potencial zeta, PDI e EE, além de simular formulações de PNPs com propriedades desejadas. Para esse propósito, foi empregado o algoritmo de RNAs com múltiplas funções de ativação. O modelo passou por um processo de otimização de hiperparâmetros visando ao aprimoramento do desempenho, utilizando métricas de avaliação apropriadas como critérios de seleção.

A metodologia do desenvolvimento dos modelos utilizados neste estudo segue a abordagem proposta por Silveira *et al.*, 2025 a qual consiste em um fluxo sequencial de modelos de classificação e regressão voltados à otimização experimental. Uma descrição detalhada do desenvolvimento teórico e computacional da metodologia pode ser encontrada no trabalho original. Nesta dissertação, são apresentados apenas os aspectos essenciais para a compreensão da sua aplicação ao sistema em estudo, bem como as adaptações realizadas quando pertinentes.

Os modelos foram desenvolvidos utilizando código na linguagem de programação R (Free Software Foundation, versão 4.3.3, Boston, MA, EUA) e executados no ambiente de desenvolvimento RStudio. O pacote H2O (versão 3.44.0.3, Mountain View, CA, EUA) para R foi utilizado, uma vez que contém nativamente os algoritmos de RNAs, bem como as métricas de validação dos modelos. Os melhores hiperparâmetros foram selecionados utilizando a função *grid* do pacote H2O, na qual múltiplos valores são testados em diferentes modelos até que sejam alcançados os valores mais otimizados para as métricas de desempenho.

4.6.1 Fluxo de desenvolvimento dos modelos preditivos

O fluxo proposto é estruturado em torno do desenvolvimento sequencial de modelos de ML, projetados para orientar e refinar o delineamento experimental. Conforme ilustrado na figura 17, o fluxo de trabalho consiste em três etapas principais. Na Etapa 1, é empregado um algoritmo de classificação binária para prever a probabilidade de formação de nanopartículas sob determinadas condições de formulação. A Etapa 2 envolve um modelo de classificação multiclasse, que categoriza as nanopartículas resultantes em faixas de valores dos parâmetros predefinidos. Por fim, a Etapa 3 utiliza um modelo de regressão baseado em regras para estimar as propriedades físico-químicas (SILVEIRA *et al.*, 2025).

Esse fluxo é interativo: as Etapas 1 e 2 são repetidas ao longo de rodadas sucessivas de experimentação. A cada nova rodada, dados experimentais adicionais, gerados a partir de formulações recém-projetadas com base nos modelos provisórios, são incorporados para o re-treinamento dos algoritmos. Esse ciclo continua até que o modelo de classificação multiclasse da Etapa 2 atinja um coeficiente de determinação (R^2) superior a 0,9, indicando desempenho preditivo satisfatório e permitindo a progressão para a etapa de regressão (Etapa 3) (SILVEIRA *et al.*, 2025).

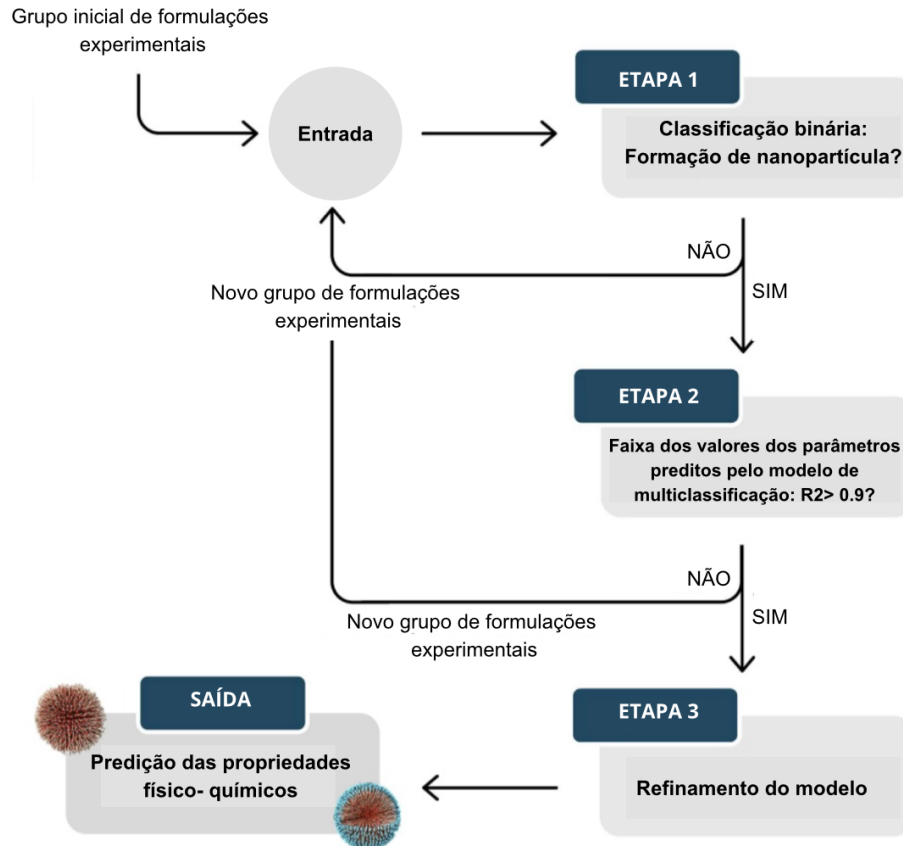


Figura 17. Fluxo de desenvolvimento do modelo preditivo baseado em três etapas. A Etapa 1 utiliza um algoritmo de classificação binária; a Etapa 2, um algoritmo de classificação multiclasse; e a Etapa 3, um algoritmo de regressão para prever as propriedades das nanopartículas. Adaptado de Silveira *et al.*, 2025.

4.6.2 Etapa 1: Modelo de classificação binária

A primeira etapa do fluxo do desenvolvimento do modelo preditivo concentra-se na previsão da ocorrência da formação de PNPs, a qual depende da convergência de múltiplos parâmetros de formulação e de processo. Isso é realizado por meio da construção de um modelo de classificação binária, no qual a variável de saída indica se a formulação resulta ou não na precipitação de nanopartículas (SILVEIRA *et al.*, 2025).

Técnicas de reamostragem de dados foram empregadas, com o objetivo de equalizar o número de resultados positivos e negativos e, assim, contornar o desbalanceamento de classes. Adicionalmente, foram conduzidas análises exploratórias de correlação para avaliar a possível multicolinearidade entre as variáveis de entrada e refinar a seleção de características quando necessário. A análise de correlação é

essencial na construção de modelos lineares como as RNAs, uma vez que a multicolinearidade entre os preditores pode desestabilizar as estimativas dos coeficientes e comprometer a interpretação das contribuições individuais das variáveis (SILVEIRA *et al.*, 2025).

O desempenho de cada classificador foi avaliado com base nas métricas de acurácia e precisão. Foi dada ênfase à precisão, uma vez que falsos positivos (isto é, a predição incorreta da formação de nanopartículas) são mais prejudiciais do que falsos negativos nesse contexto. Um falso positivo pode resultar em esforço experimental desnecessário e perda de materiais, enquanto um falso negativo apenas exclui uma formulação potencialmente viável de testes adicionais (SILVEIRA *et al.*, 2025).

Para aumentar a confiabilidade do modelo, a predição final da formação de nanopartículas só foi considerada válida quando os dois algoritmos com melhor desempenho (em termos de acurácia) retornaram predições concordantes. As formulações com predições positivas consistentes foram então encaminhadas para a Etapa 2. Caso o número de formulações que atendessem a esse critério fosse insuficiente, uma rodada adicional de coleta de dados experimentais foi conduzida para expandir e aprimorar o conjunto de dados de treinamento (Figura 17) (SILVEIRA *et al.*, 2025).

4.6.3 Etapa 2: Modelo de multiclassificação

A Etapa 2 do fluxo envolve a construção de um modelo de classificação multiclasse para categorizar as propriedades físico-químicas das partículas em intervalos definidos. Essa estratégia aborda a escassez de dados de maneira mais eficaz do que a regressão direta, especialmente nas fases iniciais da experimentação. Modelos de classificação são, em geral, mais robustos à variabilidade experimental e ao ruído, permitindo uma categorização confiável mesmo quando pontos individuais de dados se desviam levemente das tendências esperadas (SILVEIRA *et al.*, 2025).

Após a filtragem das formulações identificadas como capazes de formar dispersões coloidais estáveis na Etapa 1, estas são encaminhadas para a Etapa 2. Essa etapa incorpora validação cruzada do tipo K-fold, análise de correlação e agrupamento

de características (feature grouping) para aprimorar o desempenho preditivo (SILVEIRA *et al.*, 2025).

O agrupamento baseado em histogramas foi realizado para definir os intervalos das características das partículas, agrupando valores contínuos em classes discretas com base em sua distribuição de frequência. Essa abordagem permite que os modelos — particularmente os algoritmos baseados em árvores — capturem melhor a estrutura subjacente dos dados, aumentando a acurácia da classificação. Além disso, esse método reduz a dimensionalidade, mitiga a influência do ruído e melhora a eficiência computacional ao simplificar o espaço de decisão em cada nó (SILVEIRA *et al.*, 2025).

4.6.4 Refinamento do modelo

Nesta fase final do fluxo, o modelo preditivo faz a transição da classificação para a regressão, com o objetivo de estimar os valores exatos das características (tamanho, PDI, EE e potencial zeta) das partículas. Diferentemente da Etapa 2, que opera com dados agrupados, a Etapa 3 utiliza o conjunto de dados experimentais original, não agrupado, a fim de preservar toda a resolução da variável de saída contínua. Essa abordagem evita a esparsidade e o viés introduzidos pela discretização, particularmente em casos em que determinadas faixas de valores estão sub-representadas ou ausentes — situações comuns em conjuntos de dados experimentais reduzidos (SILVEIRA *et al.*, 2025).

Novamente, foram aplicadas validação cruzada e análises de correlação para avaliar a consistência das variáveis de entrada e mitigar o overfitting. Os modelos de regressão foram avaliados utilizando três métricas de desempenho complementares: R^2 , erro absoluto médio (MAE) e raiz do erro quadrático médio (RMSE). O MAE fornece uma medida robusta do erro médio de predição e é menos sensível a valores extremos, enquanto o RMSE penaliza de forma mais severa desvios maiores, destacando modelos propensos a erros ocasionais significativos. Em conjunto, essas métricas oferecem uma visão abrangente da acurácia e da estabilidade do modelo na predição de variáveis contínuas (SILVEIRA *et al.*, 2025).

De forma importante, a faixa de valores preditas na Etapa 2 foi utilizada como uma restrição de referência em casos de conflito entre a saída da regressão e o resultado da

classificação anterior. Nessas situações, foi dada preferência à saída da Etapa 2, uma vez que modelos de classificação treinados com dados agrupados tendem a apresentar maior robustez em cenários com poucos dados. Quando ocorreu divergência, o valor médio da faixa de valores prevista na Etapa 2 foi adotado como valor final predito para aquela formulação (SILVEIRA *et al.*, 2025).

4.6.5 Entradas e saídas das redes neurais artificiais

As variáveis empregadas na composição e no método de produção das PNPs como o volume da fase aquosa, o volume da fase orgânica, a quantidade de tensoativo líquido, a quantidade de tensoativo sólido, a quantidade de polímeros aniônico e catiônico, tipo de gotejamento na fase orgânica e o tipo de agitação e temperatura da fase aquosa constituíram as entrada usadas para o modelo para gerar como respostas a formação ou não de nanopartículas e as suas características físico químicas (tamanho, PDI, EE e potencial zeta) (Figura 18).

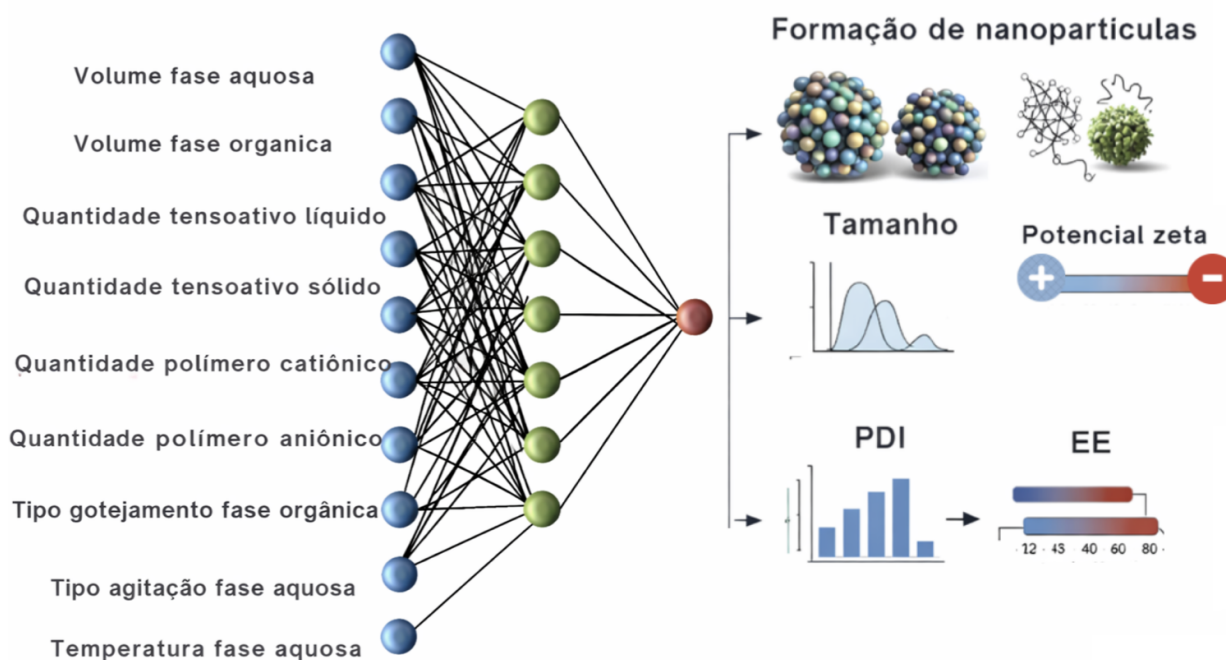


Figura 18. Esquema da rede neural artificial (RNA) com as variáveis de entrada do processo de produção das nanopartículas poliméricas (PNPs) e as variáveis de saída associadas à formação e às propriedades

físico-químicas das nanopartículas. Fonte: Autoria própria com apoio de inteligência artificial (IA) generativa (ChatGPT), a partir do desenho conceitual do estudo.

4.7 MÉTODO BIOANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA

O doseamento da SPL e do MXDI, foi realizado pela cromatografia a líquido de alta eficiência (HPLC), modelo Shimadzu LC 20-AD, que é composto por uma bomba quaternária (LC 20-AT), um injetor automático (SIL-20ADHT) e forno (CTO-20A), os quais estão acoplados a um detector espectrofotométrico (SPD-M20A) e a um computador equipado com o programa de análise cromatográfica Shimadzu LC Solution. Os métodos cromatográficos empregados foram previamente desenvolvidos e validados no laboratório, conforme descrito em trabalhos anteriores. Dessa forma, não foi realizada uma validação completa dos métodos, uma vez que estes já se encontravam estabelecidos e validados sob as mesmas condições instrumentais. Para o presente estudo, foi realizada apenas a avaliação da linearidade, com o objetivo de verificar a adequação do método às faixas de concentração utilizadas nas análises das amostras.

Foi utilizada uma coluna de fase reversa C18 (150 mm x 4,6 mm, 5 μ m; Sigma Aldrich®) e fase móvel composta por uma mistura de metanol: água ultrapura (60:40) (v/v) para a SPL (NUNES, 2021) e uma mistura de água/acetonitrila (80:20 v/v) (MATOS *et al.*, 2015) para o MXD. A vazão da fase móvel foi de 1,0 mL/min, o volume de injeção das amostras foi de 20 μ L, o forno foi utilizado à 30°C para a SPL e 40°C para o MXD e a detecção foi feita no UV em 238 nm para a SPL e 285 nm para a detecção do MXD. O tempo de análise para cada amostra foi de 10 min.

4.7.1 Linearidade do minoxidil e espironolactona

A curva analítica foi construída a partir de uma solução estoque de SPL e MXD dissolvidas em metanol, em que se obteve a concentração final de 100 μ g/mL. A partir da solução estoque em metanol, foram feitas 7 diluições, obtendo-se as seguintes concentrações: 1,0; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 μ g/mL. A análise em HPLC foi realizada em triplicata sob as condições supracitadas. As curvas analíticas foram plotadas de acordo com a relação entre a concentração e a área do pico fornecida pelo

equipamento após a injeção das amostras padrão. A análise estatística dos dados foi realizada pelo método de regressão linear, obtendo-se uma reta no formato $y = ax + b$, onde (a) corresponde ao coeficiente angular e (b) ao coeficiente linear. As faixas lineares foram calculadas utilizando-se o coeficiente de correlação linear (r^2).

4.8 ESTUDOS IN VITRO DE PENETRAÇÃO CUTÂNEA DO MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA A PARTIR DAS NANOPARTÍCULAS SELECIONADAS

Os fragmentos de pele foram retirados das orelhas de suínos, obtidas em um abatedouro local (SuinoBom, Ceilândia, Brasília/DF). As orelhas foram levadas ao laboratório e limpas com água destilada. Para a remoção da pele, a orelha foi presa em um suporte de isopor recoberto por papel laminado. A pele foi removida com auxílio de bisturi. A camada adiposa foi retirada com auxílio de uma tesoura. Após a separação da pele, foram cortados círculos com área de 2 cm² e armazenados em congelador (-4°C), por no máximo, dois meses até o uso.

As células de difusão verticais com área de difusão de 1,55 cm² acopladas ao sistema Phoenix®DB-6 (Teledyne Hanson Inc., Chatsworth, CA, EUA) (Figura 19) foram montadas utilizando a pele de orelha de suíno para separar o compartimento doador do compartimento receptor. No compartimento doador foram adicionados 500 uL das PNPs em suspensão. O compartimento receptor foi preenchido com 15 mL de solução tampão fosfato (pH 7,4) para o MXD e solução tampão fosfato (pH 7,4) acrescido com 40% de propilenoglicol para a SPL. A temperatura foi mantida a 37°C durante todo o experimento utilizando o equipamento Hanson DB-6 de aquecimento seco. Cada formulação foi testada seis vezes (n = 6). A solução receptora foi continuamente agitada a 200 rpm, e estudos independentes foram conduzidos em 12h para cada formulação.

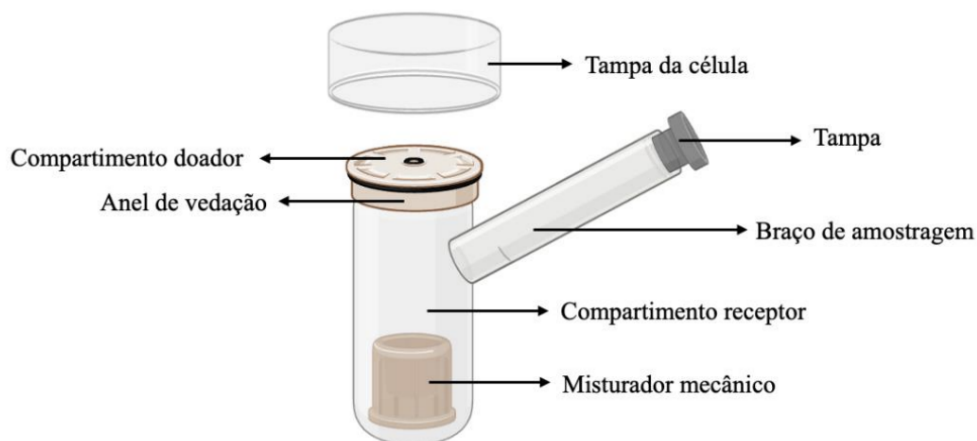


Figura 19. Representação da célula de difusão do tipo PhoenixTM. Fonte: COSTA, 2023.

Após o período de tratamento da pele com as nanopartículas, amostras do meio receptor foram coletadas e analisadas utilizando um método de HPLC validado. Em seguida, a pele foi removida das células de difusão, cuidadosamente limpa com uma gaze embebida em água, seca e colocada em uma superfície plana com o EC voltado para cima. O EC foi removido com o auxílio de 15 fitas adesivas Scotch Book (n° 845, 3M, St. Paul, Estados Unidos). Após, os FP foram removidos com a aplicação de uma gota de cola de cianoacrilato (Tek bond 793, Courbevoie, França), a colocação de uma fita adesiva sobre ela e a retirada da fita após a secagem da cola. Esse procedimento foi realizado 2 vezes. A pele viável (PV) foi então picotada com tesoura. Foram adicionados 5 mL de metanol em tubos falcons de 15mL com cada camada separada da pele (EC, FP e PV), e essas misturas foram deixadas overnight (24 h) no agitador rotativo de tubos (Biosan, Multi Bio RS-24, Riga, Letônia) para extração da SPL e MXD. Após esse período, as amostras foram filtradas em membranas com porosidade de 0,45 μm e analisadas pelo método analítico previamente validado (item 4.7).

Após a quantificação do fármaco em cada camada da pele (EC, FP e PV), foi realizado o cálculo para avaliar o fator de direcionamento (FD) (USHIROBIRA et al.,2020) das PNPs para os FP de acordo com a equação descrita:

$$FD = \frac{(QFP)}{(QEC + QFP + QPV)}$$

(Equação 3)

onde: FD é o fator de direcionamento; QFP é a massa média total encontrada nos FP; QEC é massa média total encontrada no EC; QPR é a massa média total encontrada na PV.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DO MINOXIDIL E DA ESPIRONOLACTONA COM POLÍMEROS E EXCIPIENTES

Estudos de compatibilidade fármaco–excipiente constituem uma etapa fundamental na pré-formulação farmacêutica, uma vez que os excipientes podem interagir com os ingredientes farmacêuticos ativos (IFAs) e comprometer a estabilidade e o desempenho do produto. Para maximizar a detecção de possíveis interações, misturas binárias, na proporção 1:1 (m/m), foram avaliadas por meio de técnicas térmicas, especificamente DSC e TGA, que permitem uma triagem rápida, utilizando pequenas quantidades de amostra (DANIEL *et al.*, 2020).

A técnica DSC possibilitou a comparação do comportamento térmico dos componentes puros e de suas misturas por meio da análise das variações de entalpia, faixas de temperatura e do surgimento, desaparecimento ou modificação de eventos endotérmicos e exotérmicos, que servem como indicadores de incompatibilidade. De forma complementar, a análise por TGA forneceu informações sobre eventos de perda de massa associados à degradação térmica, por meio da comparação do comportamento de degradação das misturas com o dos componentes isolados (LOPES *et al.*, 2019). Para fortalecer a interpretação, as curvas experimentais de TGA foram comparadas com perfis teóricos, calculados a partir da contribuição média das substâncias puras (PINHO *et al.*,

2021), permitindo a identificação de desvios sugestivos de interações fármaco-excipiente.

As curvas de DSC evidenciaram endotermas de fusão do MXD puro, a 186 °C ($\Delta_m H = 15,85 \text{ J g}^{-1}$) (Figura 20A) e do SPL, a 206 °C ($\Delta_m H = 56,06 \text{ J g}^{-1}$) (Figura 20B), confirmando a forma cristalina do MXD (Kumar, 2018) e a forma cristalina II não solvatada do SPL (A MARINI *et al.*, 2001; RESENDE *et al.*, 2016). Esses eventos térmicos foram utilizados como pontos de referência para a avaliação das interações fármaco-excipiente. Entre os excipientes, L100 e PVA apresentaram eventos endotérmicos próximos à faixa de fusão dos respectivos fármacos. Assim, alterações na temperatura de fusão e na entalpia, bem como o surgimento de eventos térmicos adicionais, foram considerados indicativos de interação (DANIEL *et al.*, 2020).

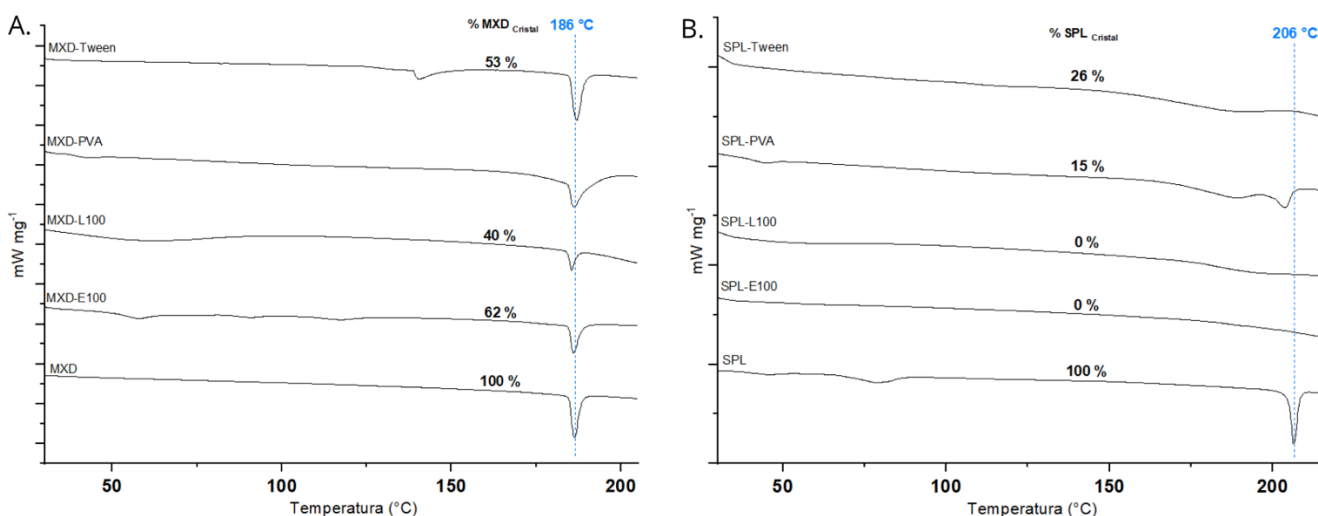


Figura 20. Curvas de DSC do minoxidil (MXD) e de suas misturas físicas com Tween 80 (Tween), PVA 40–88 (PVA), Eudragit L100 (L100) e Eudragit E100 (E100) (A), bem como da espironolactona (SPL) e de suas misturas físicas com os mesmos excipientes (B). O pico de fusão do MXD ocorre a 186 °C, enquanto o da SPL ocorre a 206 °C.

Para as misturas contendo MXD, a temperatura de fusão foi preservada em todos os sistemas (Figura 20A), indicando a manutenção da estrutura cristalina. No entanto, variações na entalpia de fusão refletiram diferentes níveis de interação. A redução da cristalinidade sugere aumento da interação e da miscibilidade, possivelmente decorrente de interações *in situ* durante a análise por DSC (PINHO *et al.*, 2021; GRANADOS *et al.*, 2025). As misturas MXD–E100, MXD–L100 e MXD–Tween apresentaram valores de $\Delta_m H$ de 9,81, 6,38 e 8,36 J g^{-1} , correspondendo a graus de cristalinidade de 62, 40 e 53 %,

respectivamente. Esses resultados indicam miscibilidade parcial e interação fármaco–excipiente (GRANADOS *et al.*, 2025), embora possíveis interações químicas não possam ser excluídas e devam ser investigadas posteriormente (DANIEL *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2019). Em contraste, a mistura MXD–PVA não pôde ser avaliada de forma confiável por DSC, uma vez que o PVA puro apresenta um pico endotérmico em aproximadamente 185 °C, provavelmente associado à fusão de sua fração cristalina (GRANADOS *et al.*, 2025). Essa sobreposição de eventos térmicos resultou em um valor de entalpia de fusão superior ao esperado para o MXD ($\Delta_m H = 24,31 \text{ J g}^{-1}$), indicando a necessidade de avaliação por uma técnica analítica alternativa (LOPES *et al.*, 2019).

Para as misturas contendo SPL, a ausência do pico de fusão do fármaco nas curvas de DSC dos sistemas com E100 e L100 (Figura 20B) sugere que o SPL pode estar presente na forma amorfa, homogeneamente disperso e miscível nas matrizes poliméricas (GRANADOS *et al.*, 2025; AQUINO *et al.*, 2024; SHAMSUDDIN *et al.*, 2016). Em contraste, a mistura SPL–PVA apresentou um pico de fusão deslocado para 203 °C, com $\Delta_m H = 8,55 \text{ J g}^{-1}$, correspondente a um grau de cristalinidade de 15 %, refletindo forte interação entre os componentes. Por sua vez, a mistura SPL–Tween apresentou um evento endotérmico amplo, com pico de fusão em 191 °C e $\Delta_m H = 14,34 \text{ J g}^{-1}$, representando um grau de cristalinidade de 26 %. De modo geral, esses resultados demonstram diferentes níveis de interação entre o SPL e os excipientes avaliados.

A análise por TGA foi realizado para detectar alterações no comportamento de degradação das misturas. A integração dos eventos foi baseada nas curvas de DTG (termogravimetria derivada), que representam a taxa de perda de massa em função da temperatura, e a compatibilidade foi avaliada por meio da temperatura inicial de decomposição (T_d), pela comparação entre os perfis teóricos e experimentais de DTG (GRANADOS *et al.*, 2025). O MXD puro apresentou $T_d = 263 \text{ °C}$ (Figura 21A), com perda de massa de 62%. A SPL apresentou um evento de degradação secundário a 199 °C (11% de perda de massa), seguido por um evento principal de decomposição a $T_d = 294 \text{ °C}$ (49% de perda de massa) (Figura 21B).

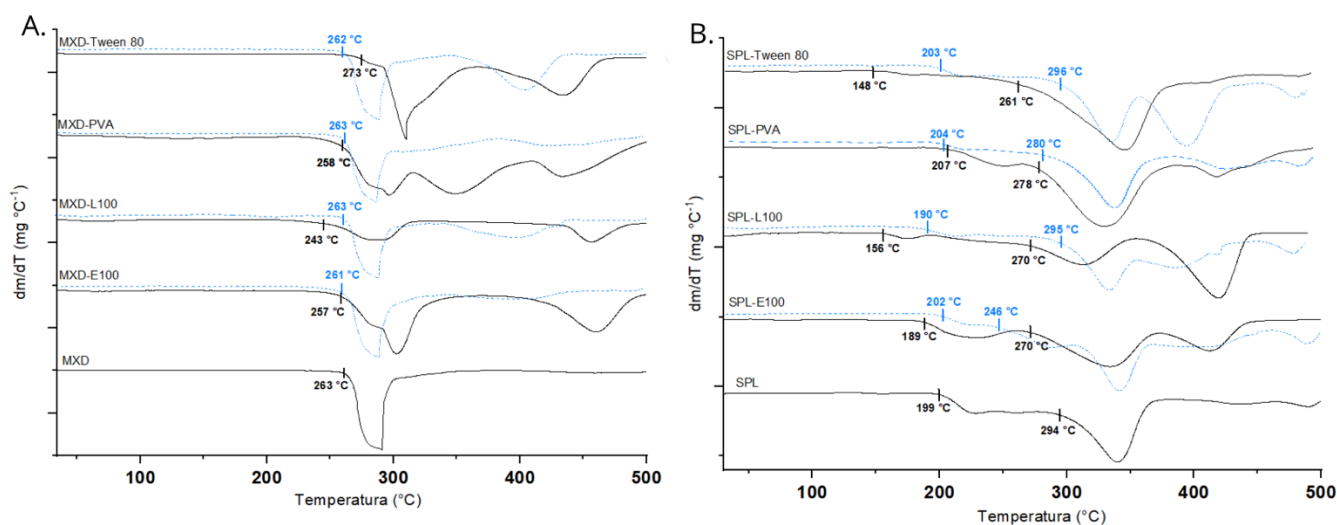


Figura 21. Curvas de DTG obtidas por análise termogravimétrica do minoxidil (MXD) e de suas misturas físicas com Tween 80 (Tween), PVA 40–88 (PVA), Eudragit L100 (L100) e Eudragit E100 (E100) (A), bem como da espironolactona (SPL) e de suas misturas com os mesmos excipientes (B). As curvas experimentais (linha contínua) são comparadas aos perfis teóricos (linha tracejada). As temperaturas indicadas correspondem aos eventos de degradação térmica e às temperaturas iniciais de decomposição (Td).

As misturas contendo MXD apresentaram perfis experimentais de degradação consistentes com as curvas teóricas quanto ao número e à sequência das etapas de decomposição. Os sistemas MXD–E100 e MXD–PVA exibiram valores experimentais de Td praticamente idênticos aos teóricos, enquanto o sistema MXD–Tween apresentou um deslocamento do Td experimental para temperaturas mais elevadas. Esses resultados sugerem mecanismos de degradação semelhantes aos dos componentes isolados, indicando compatibilidade (PINHO *et al.*, 2021). Em contraste, embora o sistema MXD–L100 tenha apresentado um padrão de degradação comparável ao da curva teórica, o Td experimental foi aproximadamente 20 °C inferior, sugerindo possível redução da estabilidade nessa matriz (GRANADOS *et al.*, 2025).

As misturas contendo SPL exigiram uma análise mais detalhada devido aos processos concomitantes de decomposição e oxidação do fármaco próximos à sua temperatura de fusão (A MARINI *et al.*, 2001), conseqüentemente, diferentes níveis de interação podem ser esperados dependendo do excipiente. Para o sistema SPL–E100, o primeiro evento de perda de massa apresentou uma antecipação de 13 °C no Td experimental em relação ao perfil teórico, enquanto o segundo evento deslocou-se 24 °C

para temperaturas mais elevadas. Apesar dessas diferenças, ambas as curvas exibiram padrões de degradação semelhantes, sugerindo compatibilidade (PINHO *et al.*, 2021).

Em contraste, a amostra experimental de SPL–L100 apresentou acentuada antecipação do Td em ambos os eventos, indicando redução da estabilidade da SPL nessa matriz. A mistura SPL–PVA não apresentou antecipação do Td experimental, e seu perfil de degradação correspondeu à contribuição aditiva do fármaco e do polímero, sugerindo que os processos de degradação térmica de ambos os componentes não foram afetados pela presença mútua e, portanto, são compatíveis (GRANADOS *et al.*, 2025). Por fim, a mistura SPL–Tween apresentou pronunciada antecipação do Td experimental, e seu comportamento de degradação diferiu substancialmente do perfil teórico, indicando que a associação entre esses materiais alterou seus mecanismos de decomposição.

De modo geral, os estudos de compatibilidade fármaco–excipiente realizados por DSC e TGA permitiram identificar diferentes níveis de interação entre os fármacos e os excipientes avaliados, evidenciando, em sua maioria, perfis térmicos compatíveis e a preservação dos mecanismos de degradação. Embora certas misturas tenham apresentado variações na entalpia de fusão ou deslocamentos na temperatura de decomposição, tais fenômenos foram atribuídos a interações físico-químicas esperadas, como a miscibilidade parcial, a redução da cristalinidade e, em casos específicos, à sobreposição de eventos térmicos — como observado na mistura com PVA —, não configurando, portanto, incompatibilidades críticas. Dessa forma, os excipientes selecionados foram considerados adequados para a etapa subsequente de desenvolvimento das PNPs, uma vez que os resultados indicaram estabilidade térmica satisfatória e uma interação controlada com os fármacos.

5.2 PRODUÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

No total, foram preparadas 127 formulações de PNPs carregadas com MXD e 131 formulações carregadas com SPL. Quanto aos resultados da produção das PNPs com MXD, das 127 formulações produzidas, 47 formaram nanopartículas e 80 não formaram (Figura 22).

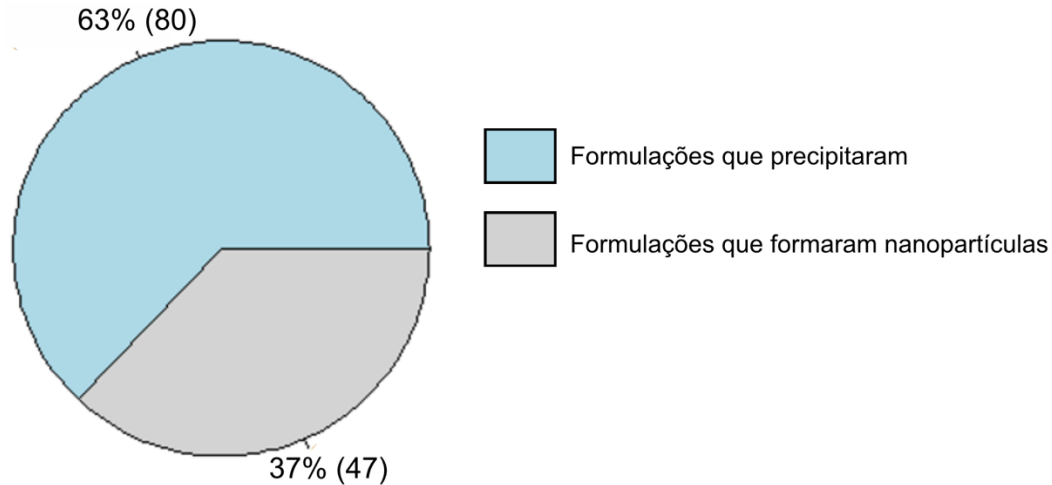


Figura 22. Distribuição percentual das formulações contendo minoxidil (MXD) quanto à formação de nanopartículas. Do total de formulações avaliadas, 63% (n = 80) resultaram em precipitação, enquanto 37% (n = 47) levaram à formação bem-sucedida de nanopartículas poliméricas (PNPs).

A constatação de formação de PNPs é caracterizado pela observação de uma dispersão homogênea como resultante do processo de produção (ZIELINSKA e tal., 2020). Por outro lado, a não formação do nanossistema foi caracterizada pela formação de precipitado durante ou após as etapas de produção. A precipitação dos materiais da formulação indica que houve a agregação das PNPs no meio, problemas de estabilidade química da formulação ou complicações quanto à solubilidade do polímero ou do fármaco (SCHAFFAZICK et al., 2003). Dessa forma, essas formulações foram consideradas inadequadas e descartadas. As etapas nas quais esse fenômeno pode ocorrer incluem a mistura das fases, a etapa de rotaevaporação e o período pós-processo de produção, antes da realização das caracterizações.

A distribuição do uso de cada excipiente e dos volumes dos meios dispersantes nas formulações que formaram nanopartículas com MXD estão apresentadas no Apêndice D. A importância relativa dessas variáveis das formulações foi estimada a partir da estrutura de pesos da rede, considerando a contribuição de cada variável ao longo dos caminhos entre a camada de entrada e a camada de saída. Posteriormente, esses valores foram normalizados, gerando uma escala de importância relativa entre as variáveis.

As variáveis mais relevantes e com maior peso na capacidade da formulação de gerar ou não nanopartículas com MXD estão apresentadas na Figura 23. Observou-se

que a quantidade do polímero aniônico foi o fator de maior importância, seguida pela quantidade do polímero catiônico e pelas quantidades dos surfactantes. Em contraste, o tipo de gotejamento e a temperatura da fase aquosa apresentaram menor relevância na influência sobre a formação das PNPs.

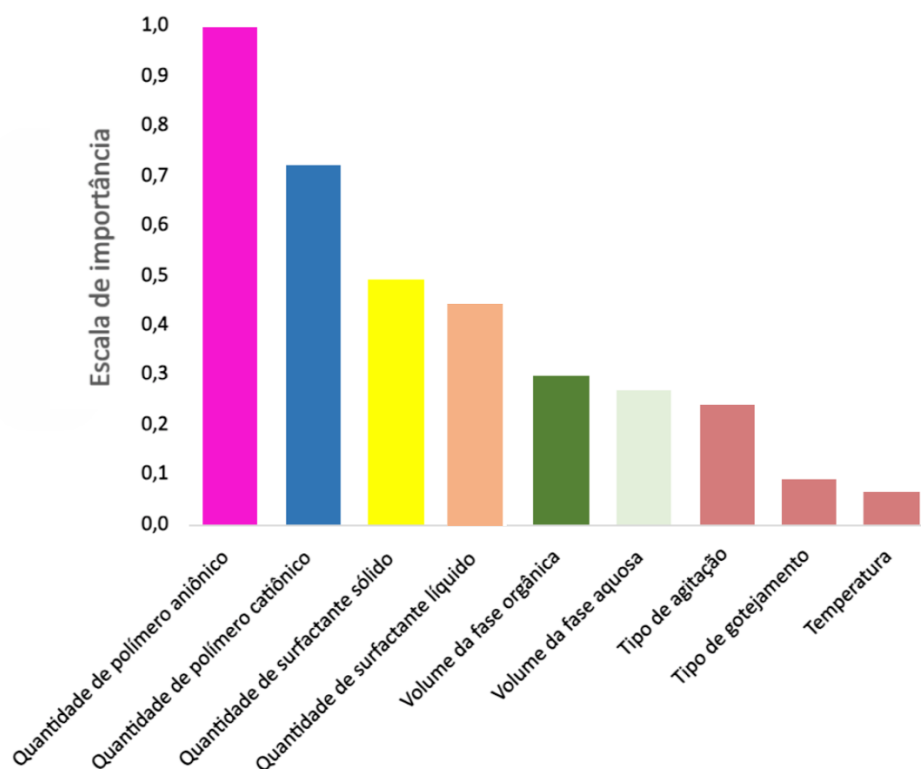


Figura 23. Importância das variáveis na formação de nanopartículas poliméricas (PNPs) com minoxidil (MXD), onde o eixo x representa as variáveis utilizadas e o eixo y a escala de importância (0 a 1).

A maior relevância do polímero aniônico na formação e estabilidade das nanopartículas contendo MXD pode ser explicada pela forte atração coulômbica entre sua carga negativa e a superfície positivamente carregada do fármaco, formando um complexo polieletrólítico que atua como camada protetora estável, em linha com o descrito para nanopartículas do tipo polyion complex e sistemas estabilizados por polieletrólitos aniônicos (MA *et al.*, 2024; SEMSARILAR *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2022). O polímero catiônico também contribui para a estabilidade ao conferir elevada carga positiva e repulsão entre partículas; entretanto, a menor afinidade inicial com o MXD catiônico torna esse mecanismo menos eficiente e mais sensível ao meio, situação análoga ao observado para nanossistemas baseados em polímeros catiônicos, que

exigem estratégias adicionais de blindagem (MA *et al.*, 2024; WILSON; YANG; PRUD'HOMME, 2024; ZHANG *et al.*, 2020). Por fim, os surfactantes atuam principalmente por estabilização estérica/interfacial, cujo efeito, embora relevante para controle de tamanho e redispersão, tende a ser menos robusto que a estabilização iônica promovida pelos polímeros em termos de resistência a variações de pH, força iônica e processos de diluição (BÖCK *et al.*, 2025; M.RASHID; GHAREEB, 2025; CORTÉS *et al.*, 2021; MA *et al.*, 2024).

Por outro lado, parâmetros operacionais como o tipo de gotejamento da fase orgânica e a temperatura da fase aquosa apresentaram menor influência na formação das nanopartículas. Esse comportamento é consistente com relatos da literatura que indicam que, uma vez estabelecida uma composição adequada da formulação (polímeros e tensoativos), variações moderadas nas condições de processo tendem a exercer impacto secundário sobre a ocorrência de formação de nanopartículas, afetando mais frequentemente propriedades como tamanho médio e distribuição granulométrica do que a própria viabilidade do sistema coloidal (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998).

Em relação aos resultados da produção das PNPs com SPL, das 131 formulações produzidas, 32 formaram nanopartículas e 99 não formaram (Figura 24).

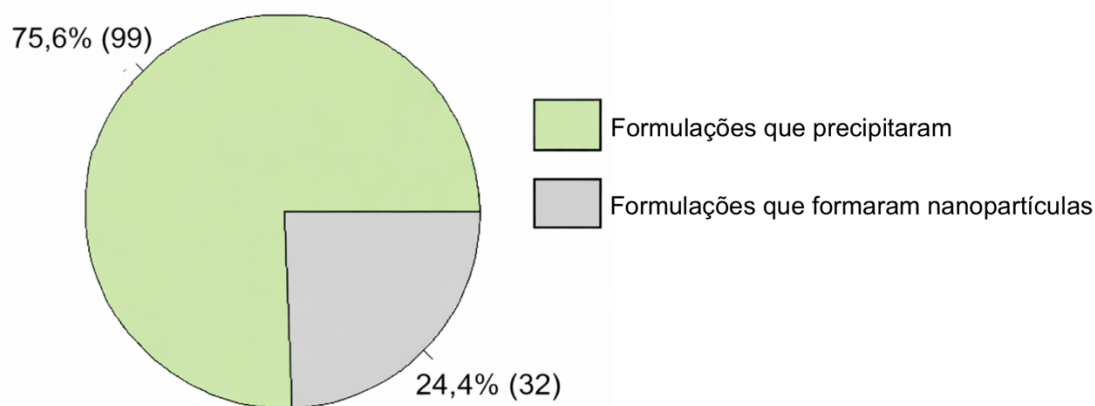


Figura 24. Distribuição percentual das formulações contendo espirolactona (SPL) quanto à formação de nanopartículas. Do total de formulações avaliadas, 75,6% (n= 99) resultaram em precipitação, enquanto 24,4% (n = 32) levaram à formação bem-sucedida de nanopartículas poliméricas (PNPs).

A distribuição do uso de cada excipiente e dos volumes dos meios de dissolução nas formulações que formaram nanopartículas com SPL estão apresentadas no Apêndice E..

As variáveis mais relevantes e com maior peso na capacidade da formulação de gerar ou não nanopartículas para as PNP's com SPL estão apresentadas na Figura 25. Observou-se que a quantidade do polímero aniônico L100, assim como verificado para as nanopartículas contendo MXD, foi o fator de maior importância para a formação das nanopartículas. Em contraste com o observado para as PNP's com MXD, as variáveis que se destacaram em seguida foram os surfactantes PVA e Tween. O tipo de gotejamento e a temperatura da fase aquosa mantiveram menor relevância quanto à influência sobre a formação das nanopartículas.

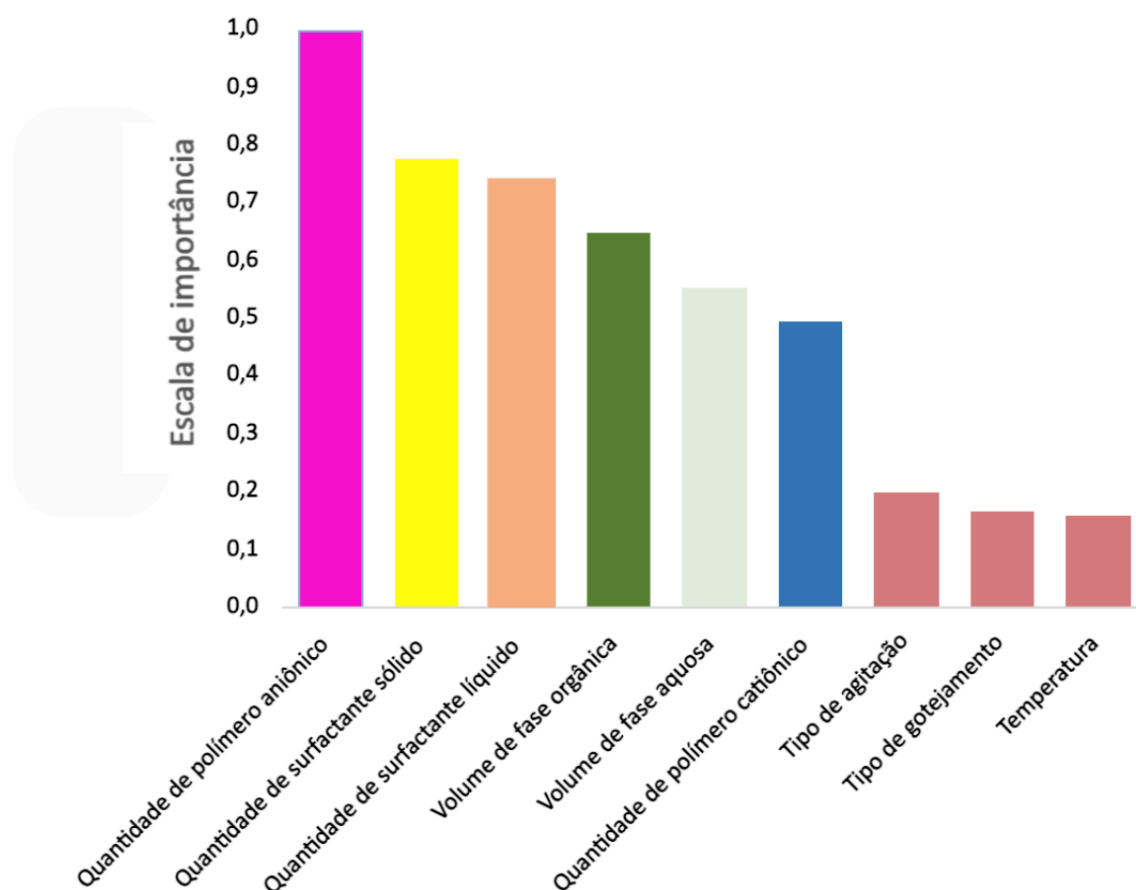


Figura 25. Importância das variáveis na formação de nanopartículas poliméricas (PNPs) com espironolactona (SPL), onde o eixo x representa as variáveis utilizadas e o eixo y a escala de importância (0 a 1).

A maior importância da quantidade de polímero aniônico é consistente com estudos que mostram que a concentração de Eudragit controla tamanho de partícula, EE e perfil de liberação em nanopartículas contendo fármacos hidrofóbicos, atuando como matriz principal e barreira difusional (CETIN; ATILA; KADIOGLU, 2010; ELIZONDO-LUEVANO *et al.*, 2023). Em sistemas com Eudragit L100 ou L100-55, a fração de polímero e sua ionização modulam o potencial zeta, a formação de “nanospecies” e a estabilidade coloidal, ligadas a interações eletrostáticas e à retenção do fármaco durante nucleação e crescimento das partículas (SY *et al.*, 2024; CHAKRABORTY; MONDAL; BANSAL, 2025; DIENG *et al.*, 2020). Pequenas variações na quantidade de polímero alteram a densidade da camada polimérica e o potencial zeta, o que se reflete diretamente no tamanho final, na distribuição de tamanho e na estabilidade coloidal (SY *et al.*, 2024; CETIN; ATILA; KADIOGLU, 2010; KADIOGLU, 2010; DIENG *et al.*, 2020; ELIZONDO-LUEVANO *et al.*, 2023). Isso justifica o modelo apontar essa variável como dominante.

Quanto ao polímero catiônico, observa-se que este perde bastante a importância para a formação das PNP's com SPL quando comparado com as PNP's com MXD. A diferença na importância relativa do E100 entre os sistemas com MXD e SPL pode estar relacionada às distintas propriedades físico-químicas dos fármacos e ao modo como estes interagem com polímeros metacrílicos catiônicos e aniônicos. Revisões sobre Eudragit destacam que a escolha e o impacto de cada polímero dependem da carga, pKa, capacidade de formar ligações de hidrogênio e lipofilicidade do fármaco, o que altera o grau de associação às cadeias poliméricas e o mecanismo de nucleação/crescimento das nanopartículas (CARDOSO *et al.*, 2023; ELIZONDO-LUEVANO *et al.*, 2023; SESTER *et al.*, 2019).

Para fármacos hidrofóbicos como a SPL, estudos com EL100/RL100 mostram que a incorporação é dominada por interações hidrofóbicas na matriz polimérica, enquanto a contribuição de interações eletrostáticas específicas é menor (FERREIRA-NUNES *et al.*, 2021) Já polímeros catiônicos como o E100 tendem a ter papel mais expressivo quando o fármaco apresenta maior potencial de interação iônica ou por ligação de hidrogênio com o polímero, modulando nucleação, estado sólido e estabilidade das partículas (SHIKHA *et al.*, 2022; WILSON *et al.*, 2021; DOERDELMANN; KOZLOVA; EPPLE, 2014).

Esse quadro é consistente com o fato de E100 aparecer como variável crítica para o MXD, mas perder relevância relativa na formação das nanopartículas de SPL em seu modelo experimental.

As quantidades de surfactante sólido (PVA 40-88) e surfactante líquido (Tween 80) surgirem logo em seguida é compatível com o fato de que fenômenos interfaciais controlam fortemente a formação de nanopartículas. Revisões e estudos experimentais mostram que PVA e polissorbatos reduzem a tensão interfacial, favorecem a nucleação e evitam coalescência, afetando tamanho, PDI e estabilidade a longo prazo (DOROKHIN et al., 2025; SHKODRA et al., 2019; SAKHI et al., 2023; CORTÉS et al., 2021; ALKHOLIEF et al., 2022; SHARMA; MADAN; LIN, 2016; KADIOGLU, 2010; PEREIRA et al., 2006). PVA, por adsorver de forma mais persistente à superfície das partículas, fornece estabilização estérica estrutural, enquanto Tween 80 modula especialmente a cinética de nucleação e a dispersão inicial do fármaco na fase aquosa (SHKODRA et al., 2019; CORTÉS et al., 2021; ALKHOLIEF et al., 2022; SHARMA; DESAI; PATEL, 2019; ZHANG et al., 2024). O caráter complementar desses dois surfactantes na definição da morfologia e da distribuição de tamanho é amplamente descrito em sistemas poliméricos e nanocristais (DOROKHIN et al., 2025; SHKODRA et al., 2019; CORTÉS et al., 2021; ALKHOLIEF et al., 2022; SHARMA; MADAN; LIN, 2016; KADIOGLU, 2010; PEREIRA et al., 2006; PATEL, 2019).

Para os ensaios de penetração cutânea, foram utilizadas 8 formulações de PNPs geradas pelas RNAs, sendo 4 PNPs carregadas com MXD e 4 com SPL. Essas formulações foram geradas pelas RNAs, após serem treinadas para estabelecer relações entre a composição das formulações e as propriedades físico-químicas resultantes das PNPs. Nesse contexto, foram definidos como parâmetros desejados para as PNPs a serem aplicadas nos estudos de penetração cutânea diferentes tamanhos para as quatro formulações de cada fármaco, com o objetivo de comparar a influência desse parâmetro no direcionamento folicular, mantendo-se fixos os demais critérios, a saber: potencial zeta superior a +30 mV, baixo PDI e elevada EE.

O direcionamento para valores de potencial zeta acima de +30 mV fundamenta-se na necessidade de garantir a estabilidade coloidal do sistema por meio da repulsão eletrostática, prevenindo fenômenos de agregação. Adicionalmente, a carga superficial

positiva favorece a interação bioadesiva com o estrato córneo, o qual apresenta carga líquida negativa em pH fisiológico, potencializando o tempo de contato e a subsequente permeação cutânea (GASZTYCH; MALAMIS; MUSIAŁ, 2024).

A definição de baixos valores de PDI justifica-se pela busca por homogeneidade granulométrica, assegurando comportamento cinético reprodutível e propriedades farmacocinéticas previsíveis. Complementarmente, a priorização de elevada EE teve como objetivo maximizar o aporte do fármaco nas camadas mais profundas da pele, protegendo o ativo contra degradações externas e otimizando o gradiente de difusão durante os estudos in vitro (DANAEI et al., 2018).

As formulações produzidas com esse propósito estão apresentadas nas Tabelas 2 e 3. As PNPs foram nomeadas utilizando a sigla do fármaco, seguida do tamanho médio hidrodinâmico determinado por DLS. Dessa forma, as PNPs contendo MXD foram denominadas MXD (115,3), MXD (200,4), MXD (331,23) e MXD (548,70), enquanto as PNPs contendo SPL foram denominadas SPL (137,37), SPL (282,13), SPL (325,93) e SPL (419,27).

Tabela 2. Composição quantitativa e variáveis de produção das formulações das nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo minoxidil (MXD).

Formulação	Composição						Variáveis de produção		
	Fase orgânica			Fase aquosa					
	MXD (mg)	E100 (mg)	Solvente (mL)	PVA (mg)	Tween (mg)	Água (mL)	Gotejamento da fase orgânica na fase aquosa	Agitação da fase aquosa	Temperatura
MXD (115,3)	20	40	10	50	0	10	Bureta	Ultraturrax	50°C
MXD (200,4)	20	16	12,1	18	32	7,9	Verter	Ultraturrax	25°C
MXD (331,23)	20	59	12	39	11	8	Bureta	Magnética	25°C
MXD (548,70)	20	19	15	50	0	5	Bureta	Magnética	50°C

Tabela 3. Composição quantitativa e variáveis de produção das formulações das nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo espironolactona (SPL).

Formulação	Composição						Variáveis de produção		
	Fase orgânica			Fase aquosa					
	SPL (mg)	E100 (mg)	Solvente (mL)	PVA (mg)	Tween (mg)	Água (mL)	Gotejamento da fase orgânica na fase aquosa	Agitação da fase aquosa	Temperatura
SPL (137,37)	20	80	10	35	15	10	Verter	Magnética	50°C
SPL (282,13)	20	19,2	14,9	11,5	38,5	5,1	Bureta	Ultraturrax	25°C
SPL (325,93)	20	75	12	50	0	8	Verter	Magnética	50°C
SPL (419,27)	20	39,1	15	35,4	14,6	5	Verter	Ultraturrax	50°C

5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

Todas as formulações produzidas que resultaram em nanopartículas foram caracterizadas em triplicata no mesmo dia da produção. Os resultados das caracterizações de tamanho, PDI, potencial zeta e EE das 47 PNPs com MXD estão apresentados na Figura 26.

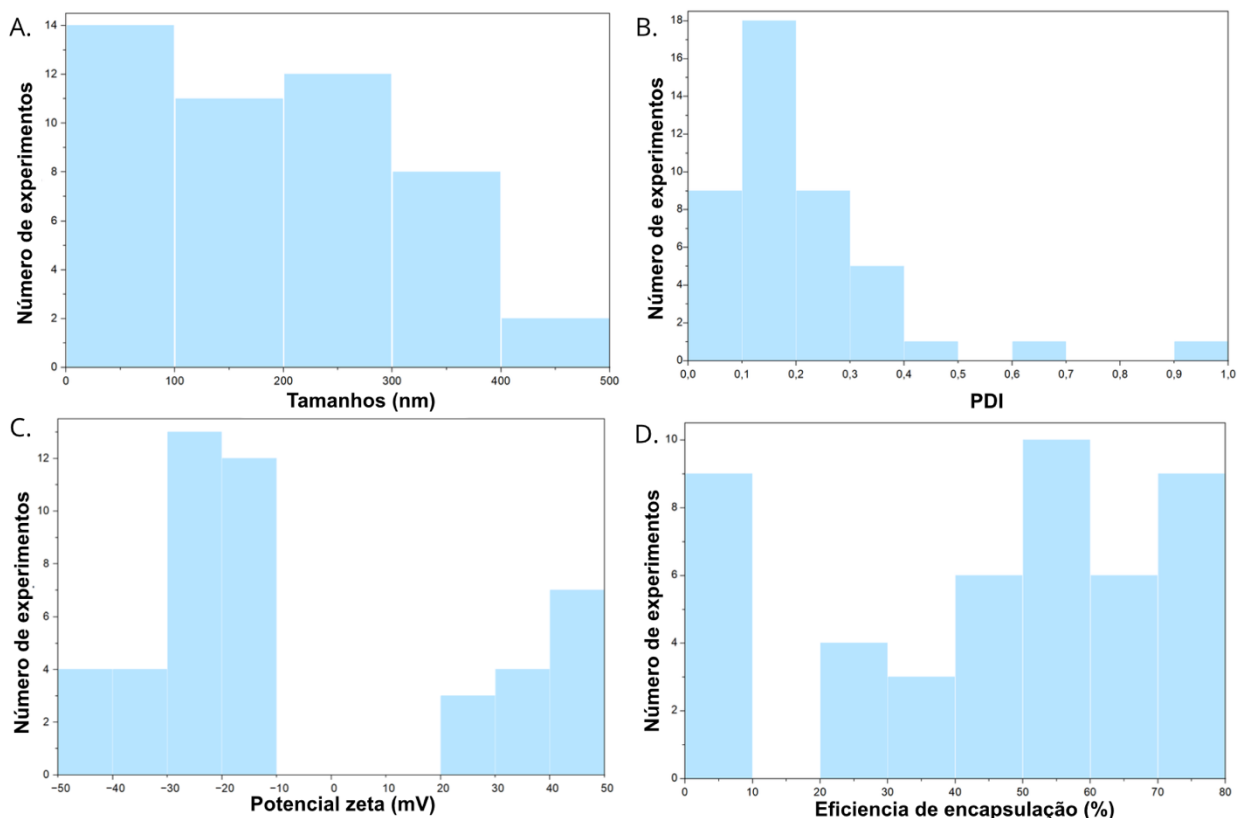


Figura 26. Distribuição dos valores de tamanho em nanômetro (A) valores de PDI (B), potencial zeta (C) e da porcentagem da eficiência de encapsulação (EE) (D) para as 47 formulações com minoxidil (MXD) que resultaram na formação de nanopartículas.

O tamanho médio das partículas e a distribuição de tamanhos constituem características de fundamental importância nas áreas farmacêutica e cosmética. O tamanho das nanopartículas influencia diretamente o perfil de penetração e a distribuição do fármaco nas diferentes camadas e vias da pele (MAEDA et al., 2025). As formulações de PNPs produzidas com MXD apresentaram ampla faixa de tamanhos de partícula (Figura 26A), com valores variando entre 21,24 nm e 459,58 nm. Observou-se que, na maioria dos casos, as PNPs exibiram tamanhos reduzidos, predominantemente até 50 nm e em torno de 100 nm, com apenas 2 experimentos que resultaram tamanhos maiores de PNPs entre 400 e 500 nm.

Em relação aos valores de PDI, que indicam a distribuição do diâmetro das nanopartículas em torno do valor médio (LEANPOLCHAREANCHAI; TEERANACHAIDEEKUL, 2023), os resultados das caracterizações (Figura 26B) demonstraram, na maioria dos casos, valores inferiores a 0,2, indicando elevada

homogeneidade de tamanho (LEANPOLCHAREANCHAI; TEERANACHAIDEEKUL, 2023). Apenas 2 formulações apresentaram valores elevados desse parâmetro, superiores a 0,5.

As caracterizações do potencial zeta (Figura 26C) revelaram potenciais negativos entre -10 e -40 mV e positivos entre 20 e 50 mV. Considerando que o polímero aniônico foi mais empregado nas formulações, por favorecer a formação de nanopartículas com esse fármaco, a maioria das PNPs apresentou valores negativos de potencial zeta, principalmente na faixa de -10 a -30 mV. Por outro lado, as PNPs formuladas com polímeros catiônicos exibiram valores elevados, a partir de 20 mV, ultrapassando 40 mV.

Quanto à EE, foram obtidas PNPs com diferentes capacidades de incorporação do fármaco, variando de 23,62% a 78,58% (Figura 26D).

Para as PNPs contendo SPL, os resultados das caracterizações estão apresentados na Figura 27.

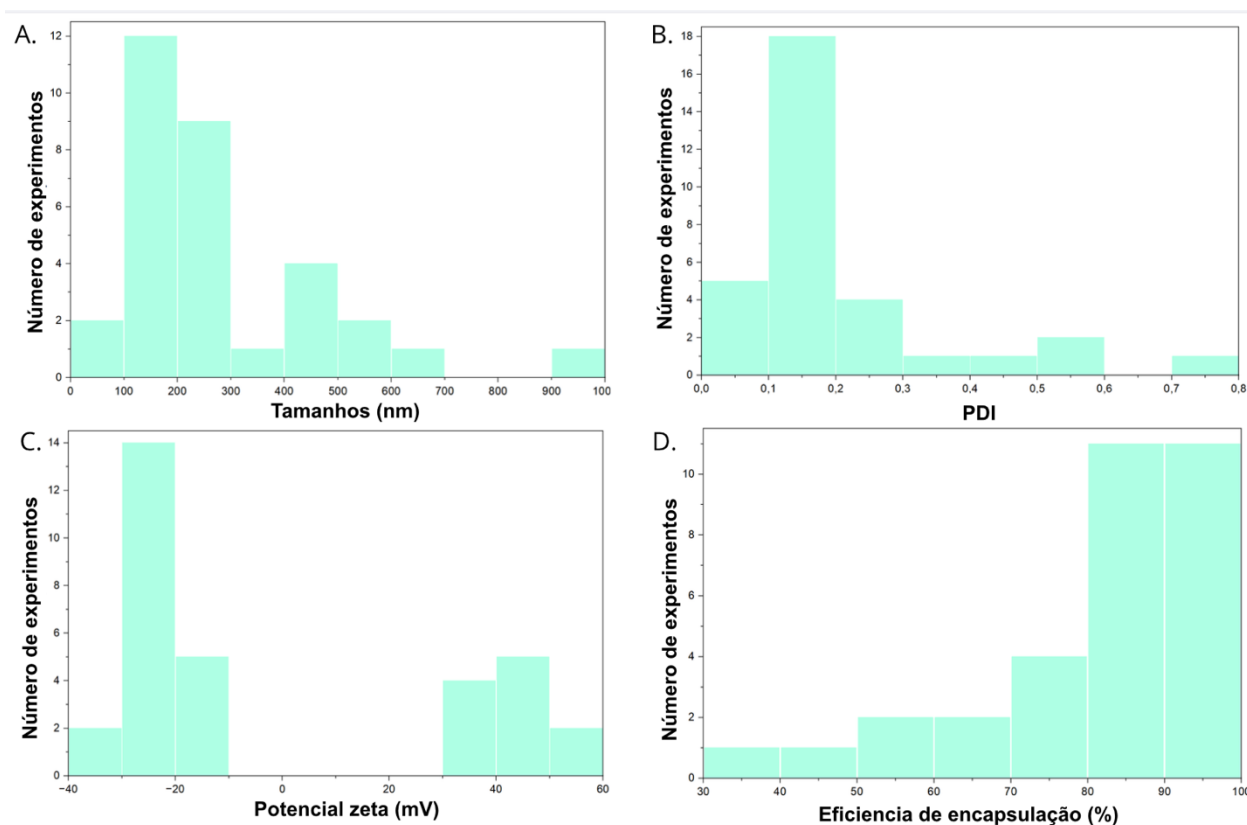


Figura 27. Distribuição dos valores de tamanho em nanômetro (A) valores de PDI (B), potencial zeta (C) e da porcentagem da eficiência de encapsulação (EE) (D) para as 47 formulações com espironolactona (SPL) que resultaram na formação de nanopartículas.

Em relação aos tamanhos de partícula, as formulações de PNPs contendo SPL apresentaram ampla variabilidade, com valores entre 64,06 nm e 937,52 nm (Figura 27A). Na maioria dos casos, os tamanhos situaram-se entre 100 e 200 nm, com expressiva representatividade também na faixa de 200 a 300 nm.

Os valores de PDI medidos apresentaram-se, em sua maioria, compreendidos entre 0,06 e 0,2, indicando boa homogeneidade do sistema. Apenas duas formulações apresentaram valores superiores a 0,5 (Figura 27B).

Os potenciais zeta, tanto positivos quanto negativos, apresentaram predominantemente valores elevados em módulo, superiores a 40 mV. Não foi observada nenhuma PNP com potencial zeta positivo inferior a 20 mV, sendo o menor valor registrado de -32,64 mV e o maior de 54,01 mV (Figura 27C).

A EE das PNPs contendo SPL mostrou-se predominantemente elevada, com valores superiores a 80%. Entretanto, uma pequena parcela das formulações apresentou percentuais reduzidos (Figura 27D).

De modo geral, os resultados de caracterização das PNPs contendo MXD e SPL demonstraram que as RNAs foram capazes de gerar formulações com uma ampla variabilidade nos parâmetros físico-químicos avaliados. Observou-se, na maioria dos casos, a obtenção de sistemas com baixo PDI, potenciais zeta elevados em módulo e elevados valores de EE, indicando boa estabilidade coloidal e adequada incorporação dos fármacos.

As 8 formulações selecionadas para os estudos de penetração cutânea in vitro foram caracterizadas quanto aos principais parâmetros físico-químicos, conforme apresentado nas Tabelas 4 e 5. As PNPs foram nomeadas de acordo com o fármaco incorporado, seguido do respectivo tamanho médio hidrodinâmico determinado por DLS, permitindo a identificação direta da faixa de tamanho de cada sistema.

As formulações contendo MXD apresentaram tamanhos médios distintos, variando de aproximadamente 115 a 549 nm, possibilitando a obtenção de sistemas com diferentes perfis dimensionais, conforme proposto no delineamento experimental. Além disso, todas as formulações apresentaram valores de PDI inferiores a 0,2, evidenciando elevada homogeneidade granulométrica.

Os valores de potencial zeta das PNPs com MXD foram positivos e superiores a +30mV, refletindo a adequada estabilidade dos sistemas obtidos. Em relação à EE, observaram-se valores relativamente baixos, com exceção da formulação MXD (200,4), que apresentou EE significativamente superior às demais. Isso se dá devido principalmente, à natureza catiônica do polímero utilizado. A presença de cargas positivas na matriz polimérica pode limitar a incorporação do fármaco, especialmente em sistemas nos quais predominam interações eletrostáticas desfavoráveis, restringindo, assim, uma maior retenção do MXD no interior das nanopartículas (MA *et al.*, 2024). Cabe destacar que essa limitação já havia sido previamente indicada pelo modelo preditivo desenvolvido, o qual apontava menor probabilidade de obtenção de elevados valores de EE em formulações contendo polímeros catiônicos. Ainda assim, essas formulações foram selecionadas para a etapa de penetração cutânea, uma vez que atendiam aos critérios estabelecidos para a investigação do efeito do tamanho das partículas, permitindo a fixação dos demais parâmetros físico-químicos.

Os valores de pH permaneceram dentro de uma faixa semelhante entre as formulações, indicando boa uniformidade do meio (tabela 4).

Tabela 4. Caracterização das nanopartículas poliméricas (PNPs) carregadas com o minoxidil (MXD). Os resultados apresentados estão como a média (\pm) de três determinações (n=3).

Amostras	Diâmetro médio (nm)	PDI	Potencial zeta (mV)	EE (%)	pH
MXD (115,3)	115,3 \pm 1,63	0,086 \pm 0,02	40,86 \pm 1,87	28,74 \pm 1,06	9,31 \pm 0,14
MXD (200,4)	200,4 \pm 1,36	0,130 \pm 0,01	40,17 \pm 0,7	60,43 \pm 3,29	8,26 \pm 0,16
MXD (331,23)	331.23 \pm 1,24	0,160 \pm 0,03	38,43 \pm 0,89	37,24 \pm 3,02	8.94 \pm 0,12
MXD (548,70)	548.70 \pm 2,76	0,09 \pm 0,01	44 \pm 1,06	33,96 \pm 0,21	7.18 \pm 0,12

As formulações contendo SPL também apresentaram variação controlada de tamanho, entre aproximadamente 137 e 419 nm, mantendo baixos valores de PDI. Os potenciais zeta permaneceram acima de +30 mV em todas as formulações.

No que se refere à EE, as PNPs contendo SPL apresentaram melhores eficiências, predominantemente entre 60% e 80%, superiores aos observados para as formulações com MXD, indicando maior afinidade desse fármaco com a matriz polimérica utilizada. Os valores de pH mostraram-se semelhantes entre as formulações.

Tabela 5. Caracterização das nanopartículas poliméricas (PNPs) carregadas com a espirolactona (SPL). Os resultados apresentados estão como a média (\pm) de três determinações (n=3).

Amostras	Diâmetro médio (nm)	PDI	Potencial zeta (mV)	EE (%)	pH
SPL (137,37)	137,37 \pm 0,98	0,130 \pm 0,03	36,90 \pm 1,31	79,74 \pm 0,70	8,36 \pm 0,22
SPL (282,13)	282,13 \pm 1,89	0,130 \pm 0,00	33,65 \pm 1,95	70,33 \pm 1,25	8,26 \pm 0,19
SPL (325,93)	325,93 \pm 0,75	0,120 \pm 0,01	42,63 \pm 0,83	79,59 \pm 1,41	8,47 \pm 1,23
SPL (419,27)	419,27 \pm 1,07	0,1 \pm 0,02	40,17 \pm 0,73	60,43 \pm 0,50	8,03 \pm 0,53

De forma geral, as formulações selecionadas apresentaram parâmetros físico-químicos (tamanho, potencial zeta, PDI e EE) condizentes com as metas estabelecidas. Assim, os modelos preditivos baseados em RNAs mostraram-se eficazes na orientação de sistemas que atendessem aos requisitos de interesse. Além da caracterização inicial, o pH foi determinado nas oito formulações destinadas aos estudos de penetração cutânea. Essa análise é crucial, pois valores extremos de pH podem comprometer a integridade da barreira cutânea (LÓPEZ-CANO *et al.*, 2022).

Visto que a pele saudável mantém um pH entre 4,6 e 5,8 — acidez que favorece a proteção microbiológica (MOGHIMIPOUR; SALIMI; LEIS, 2012) — os valores ligeiramente alcalinos observados neste estudo sugerem uma influência direta da natureza dos polímeros e dos métodos de preparo. Todavia, por se tratar de uma etapa inicial de desenvolvimento, tais resultados não invalidam as PNPs, uma vez que o pH é passível de ajuste em etapas de otimização farmacotécnica posteriores para garantir a adequação clínica e o uso tópico (MOGHIMIPOUR; SALIMI; LEIS, 2012).

A morfologia e o tamanho das nanopartículas selecionadas para os ensaios de penetração cutânea também foram avaliados por MET. As 4 formulações carregadas com MXD estão apresentadas na figura 28. As imagens evidenciam partículas predominantemente esféricas, com definição de contorno, indicando adequada formação dos sistemas nanoparticulados.

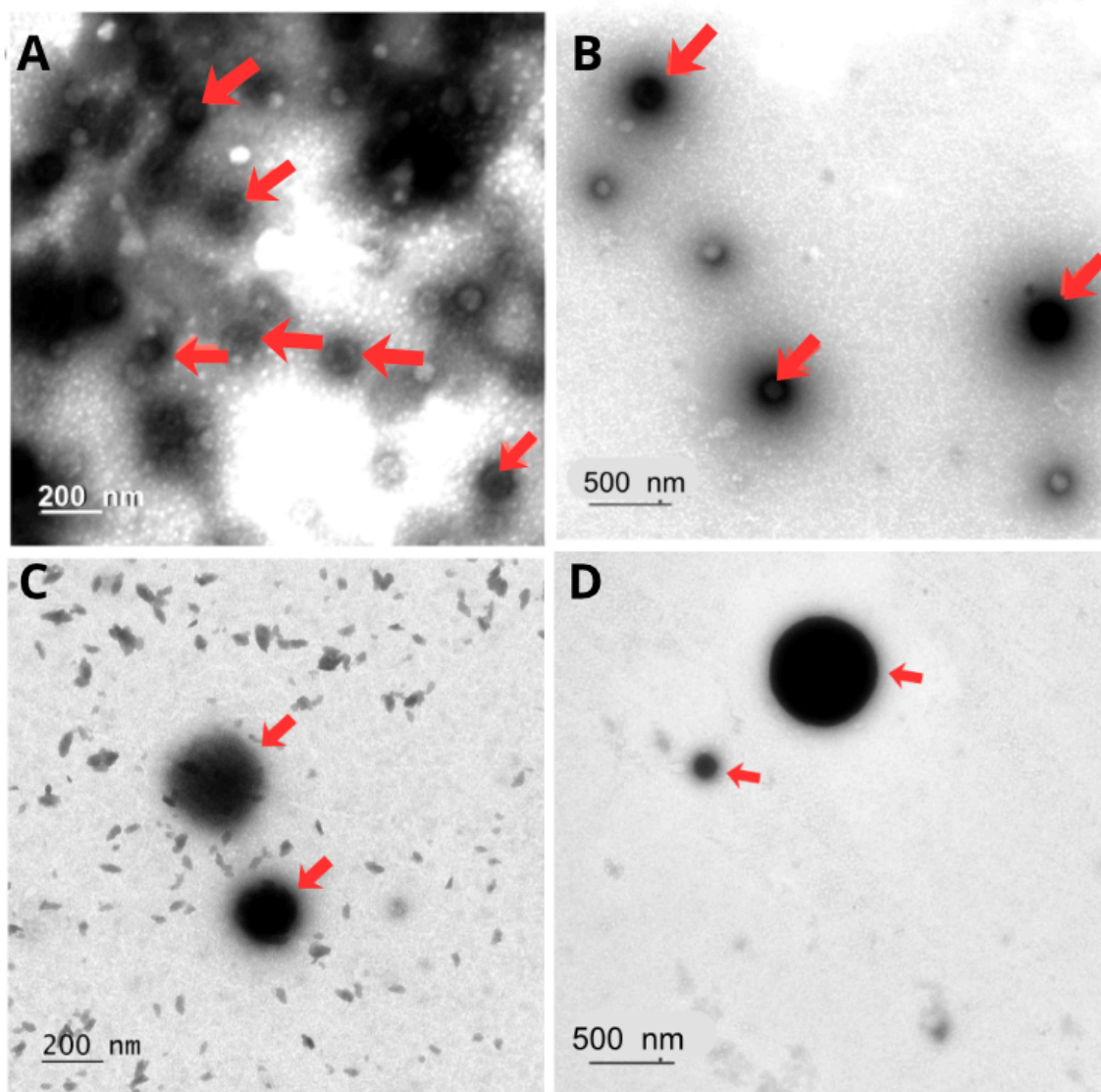


Figura 28. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) das nanopartículas contendo minoxidil (MXD): (A) formulação MXD (115,3 nm), (B) MXD (200,4 nm), (C) MXD (331,23 nm) e (D) MXD (548,70 nm). Observam-se partículas predominantemente esféricas, com tamanhos compatíveis com os valores obtidos por espalhamento dinâmico de luz. As barras de escala correspondem a 200 nm (A,C) e 500 nm (B,D).

A partir das imagens de MET, foram determinados os tamanhos das partículas utilizando o software ImageJ®, obtendo-se valores de $107,40 \pm 12,30$ nm (Figura 28A), $184,62 \pm 57,0$ nm (Figura 28B), $262,97 \pm 57,05$ nm (Figura 28C) e $629,29$ nm e $129,97$ nm (Figura 28D). Esses resultados mostram um aumento progressivo no tamanho das nanopartículas entre as diferentes formulações, o que está de acordo com os valores obtidos por DLS, que foram de $115,3$ nm (Figura 28A), $200,4$ nm (Figura 28B), $331,23$ nm (Figura 28C) e $548,70$ nm (Figura 28D).

De modo geral, observa-se uma boa concordância entre os tamanhos determinados por MET e por DLS, especialmente para as formulações MXD ($115,3$ nm) e MXD ($200,4$ nm), indicando homogeneidade no processo de obtenção das nanopartículas. As pequenas diferenças observadas entre as técnicas são esperadas, uma vez que o DLS determina o diâmetro hidrodinâmico das partículas em suspensão, incluindo a camada de solvatação e possíveis interações superficiais, enquanto o MET fornece o tamanho real das partículas em estado seco (BHATTACHARJEE, 2016; DOMINGOS *et al.*, 2009).

Quanto as PNPs contendo SPL, conforme apresentado figura 29. As imagens evidenciam a formação de partículas predominantemente esféricas, com contornos bem definidos, indicando adequada organização estrutural dos sistemas nanoparticulados.

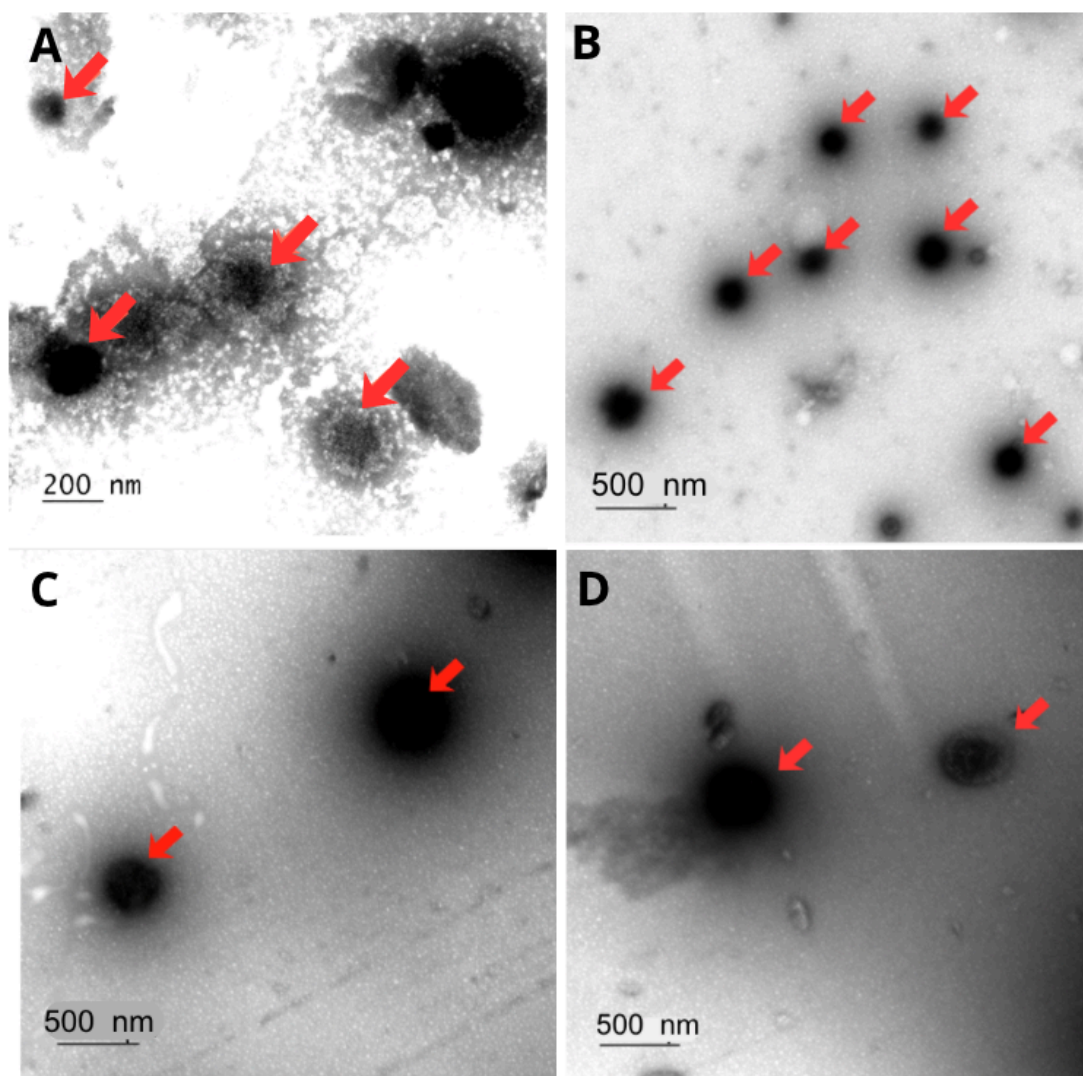


Figura 29. Imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) das nanopartículas contendo espironolactona (SPL): (A) SPL (137,37 nm), (B) SPL (282,13 nm), (C) SPL (325,93 nm) e (D) SPL (419,27 nm). Observam-se partículas predominantemente esféricas, com tamanhos compatíveis com os valores obtidos por espalhamento dinâmico de luz (DLS). As barras de escala correspondem a 200 nm (A) e 500 nm (B–D).

A partir das imagens de MET, foram determinados os tamanhos das partículas, obtendo-se valores de $136,45 \pm 25,22$ nm (Figura 29A), $185,54 \pm 29,47$ nm (Figura 29B), $324,96 \pm 3,41$ nm (Figura 29C) e $414,94 \pm 36,62$ nm (Figura 29D). Esses resultados demonstram um aumento progressivo do tamanho das nanopartículas entre as diferentes formulações.

Os valores obtidos por MET apresentaram boa concordância com aqueles determinados por DLS, que foram de 137,37 nm (Figura 29A), 282,13 nm (Figura 29B),

325,93 nm (Figura 29C) e 419,27 nm (Figura 29D). As diferenças observadas entre os valores de TEM e DLS, especialmente na formulação SPL 282,13 nm, podem ser atribuídas às particularidades de cada técnica. O DLS fornece o diâmetro hidrodinâmico das partículas em meio aquoso, considerando a camada de solvatação e possíveis interações superficiais, enquanto o TEM permite a visualização direta das partículas em estado seco, refletindo seu tamanho real (BHATTACHARJEE, 2016; DOMINGOS *et al.*, 2009).

Embora as micrografias obtidas por MET tenham permitido a adequada avaliação da morfologia e do tamanho das nanopartículas, observa-se, em algumas imagens, a presença de ruído de fundo, variações de contraste e diferenças na intensidade do nível de cinza. Esses aspectos podem estar relacionados a fatores inerentes à preparação da amostra, como a presença de resíduos do meio de dispersão, condições de secagem na grade e concentração da suspensão, bem como às condições de aquisição das imagens (MICHEN *et al.*, 2015; KaKOL *et al.*, 2023).

Adicionalmente, em determinados painéis, nota-se leve redução na nitidez e heterogeneidade visual, o que pode interferir parcialmente na padronização das figuras. No entanto, tais limitações não comprometeram a análise morfológica, uma vez que as partículas apresentaram contornos bem definidos, permitindo a mensuração confiável dos diâmetros por meio do software ImageJ®. Ressalta-se que, apesar dessas limitações, os valores obtidos por MET apresentaram boa concordância com os dados de DLS, reforçando a consistência dos resultados. Dessa forma, as micrografias foram consideradas adequadas para a caracterização morfológica dos sistemas desenvolvidos, validando a formação das nanopartículas contendo os fármacos estudados.

5.3.1 Curva padrão de espirolactona e minoxidil pelo método espectroscópico UV

A curva de calibração padrão do MXD e da SPL mostraram-se linear no intervalo de concentração de 0–25 µg/mL (Figura 30), com valor de R^2 de 0,9967 para o MXD (Figura 30A) e R^2 de 0,9968 para SPL (Figura 30B) valores estes que estão dentro dos limites estabelecidos pela RE n° 166 de 2017 da ANVISA (BRASIL, 2017) e FDA (FDA, 1994).

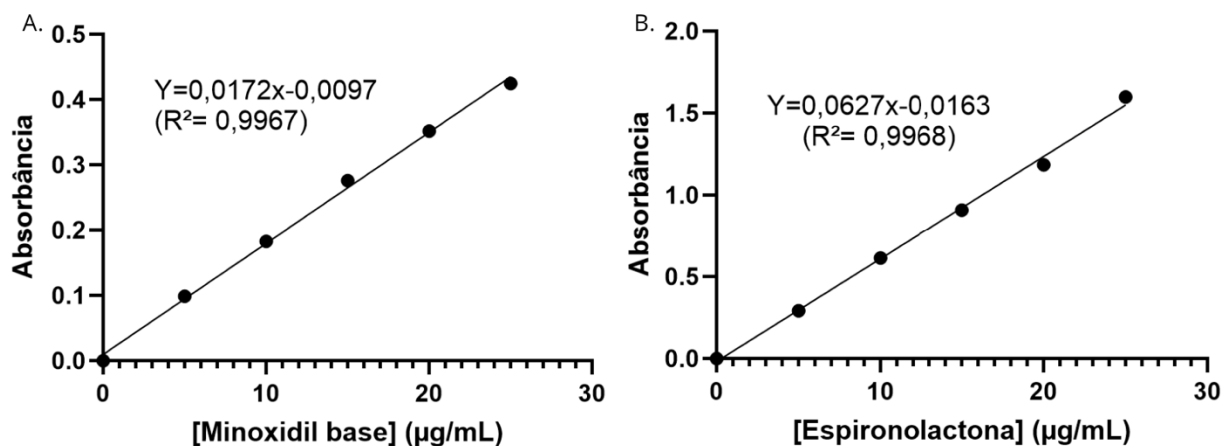


Figura 30. Curva de calibração da espironolactona (SPL) (A) e do minoxidil (MXD) (B).

5.4 ESTUDO DE ESTABILIDADE

Todas as nanopartículas formadas foram avaliadas após 90 dias de armazenamento a 4 °C. Dentre as 47 formulações que resultaram na formação de PNPs contendo MXD, 17 amostras mantiveram-se homogêneas após o período de armazenamento. Essas 17 formulações estáveis foram novamente caracterizadas quanto às suas propriedades coloidais. A comparação entre os resultados das caracterizações no dia da produção e de 90 dias depois estão apresentados na figura 31.

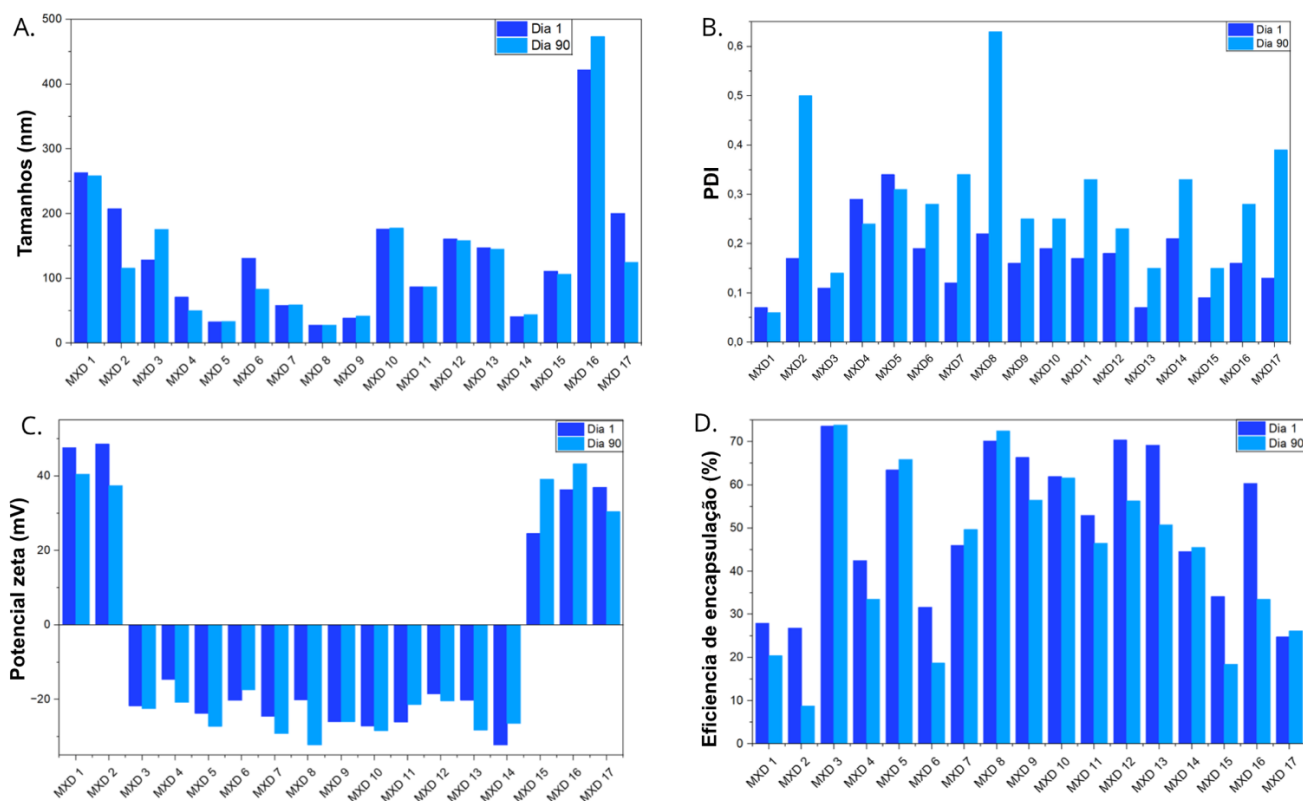


Figura 31. Avaliação da estabilidade físico-química das nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo minoxidil (MXD) ao longo do armazenamento. (A) Tamanho médio de partícula (nm), (B) índice de polidispersidade (PDI), (C) potencial zeta (mV) e (D) eficiência de encapsulação (EE) determinados no dia 1 e após 90 dias de armazenamento para as diferentes formulações (MXD1–MXD17).

Em relação ao tamanho médio (Figura 31A), verificou-se que a maioria das formulações apresentou variações discretas entre o dia 1 e o dia 90, indicando adequada estabilidade dimensional. No entanto, algumas amostras, como MXD16, evidenciaram aumento mais pronunciado, sugerindo possível processo de agregação ou rearranjo estrutural ao longo do tempo. Os valores de PDI (Figura 31B) permaneceram, em sua maioria, abaixo de 0,3, indicando distribuição relativamente homogênea das partículas. Entretanto, algumas formulações apresentaram aumento significativo do PDI após 90 dias, sugerindo início de instabilidade coloidal e maior heterogeneidade populacional. Quanto ao potencial zeta (Figura 31C), as formulações após o período de armazenamento de 90 dias, apresentaram uma notável manutenção da polaridade das cargas em todas as formulações. Embora pequenas variações tenham sido detectadas — como a sutil redução nos valores positivos das amostras MXD 1 e 2 e o incremento da

carga negativa em formulações como MXD 8 e 13, os valores absolutos permaneceram, em sua maioria, acima de |20 mV|.

A EE apresentou variações moderadas ao longo do armazenamento (Figura 31D), a maioria das amostras demonstrou uma estabilidade química satisfatória, mantendo percentuais de EE% muito próximos aos valores originais, como observado de forma notável na amostra MXD 3, que preservou a maior eficiência do estudo ($\approx 74\%$) sem perdas detectáveis. Contudo, perdas acentuadas de fármaco foram registradas em formulações específicas, com destaque para a MXD 2, que sofreu uma redução drástica de cerca de 27% para menos de 10%, e a MXD 16, evidenciando processos de liberação prematura ou "vazamento" (leaching) do MXD da matriz polimérica durante o período de prateleira.

A análise comparativa dos parâmetros ao longo de 90 dias de armazenamento indica comportamentos distintos quanto à estabilidade físico-química das formulações (Figura 31). De modo geral, o potencial zeta foi o parâmetro que apresentou maior estabilidade, com variações discretas entre o dia 1 e o dia 90, evidenciando a manutenção das características de carga superficial das nanopartículas. O tamanho médio e o PDI apresentaram estabilidade intermediária. Embora a maioria das formulações tenha mantido valores próximos aos iniciais, algumas amostras exibiram aumentos moderados, sugerindo a ocorrência pontual de processos de agregação ou reorganização estrutural ao longo do armazenamento.

Por outro lado, a EE foi o parâmetro mais sensível ao tempo, apresentando reduções mais expressivas em diversas formulações após 90 dias. Esse comportamento pode estar associado à difusão gradual do fármaco para o meio externo ou a alterações na matriz polimérica, resultando em menor capacidade de retenção do ativo. De forma integrada, esses resultados indicam que, enquanto as propriedades superficiais das nanopartículas permaneceram relativamente preservadas, os aspectos relacionados à retenção do fármaco mostraram-se mais suscetíveis às condições de armazenamento.

Em relação à estabilidade das PNPs contendo SPL, das 32 formulações consideradas viáveis no primeiro dia, apenas uma amostra permaneceu estável após 90 dias de armazenamento. As demais formulações apresentaram deposição de material no fundo do frasco durante o período de armazenamento, sendo, portanto, descartadas.

Esse comportamento indica uma elevada susceptibilidade das formulações contendo SPL à instabilidade coloidal, possivelmente relacionada às propriedades físico-químicas do fármaco, como baixa solubilidade aquosa, elevada hidrofobicidade e limitada afinidade com a matriz polimérica. Tais características podem favorecer a reorganização estrutural das nanopartículas, promovendo a coalescência, o aumento do tamanho efetivo das partículas e, conseqüentemente, a sedimentação (DEREIAH *et al.*, 2024).

Quanto às formulações selecionadas para o estudo de penetração cutânea, no caso das PNP's contendo MXD, das 4 amostras de nanopartículas produzidas, 3 mantiveram-se homogêneas, enquanto uma apresentou indícios de separação de fases. As fotografias das formulações correspondentes a essas nanopartículas no dia 1 e dia 90 estão apresentadas na figura 32.

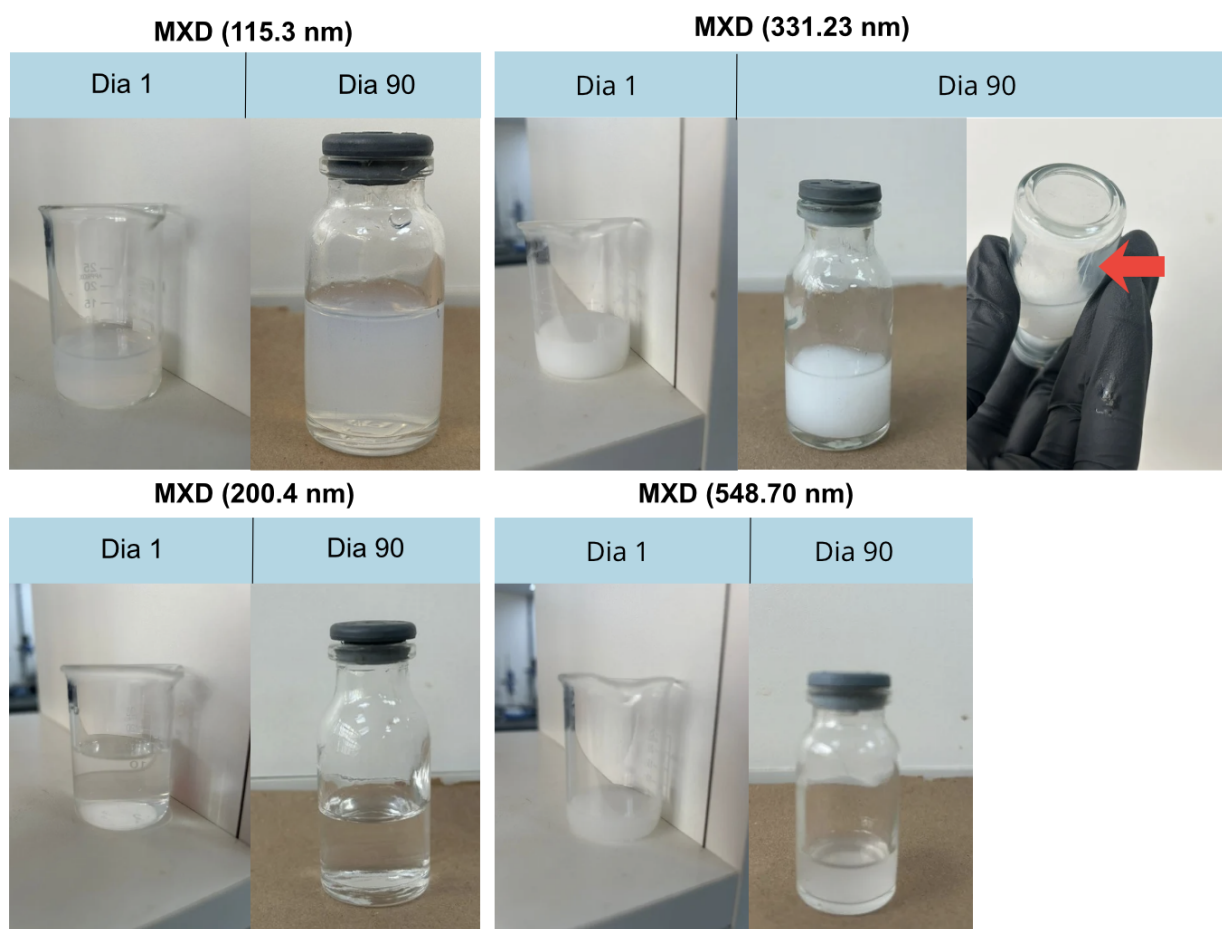


Figura 32. Fotografia das formulações de nanopartículas de MXD (115.3 nm), MXD (200.4 nm), MXD (331.23 nm) e MXD (548.70nm) no dia em que foram produzidas e após 90 dias armazenadas na geladeira.

Os valores de diâmetro hidrodinâmico, PDI, potencial zeta e pH das amostras de PNPs contendo MXD, que permaneceram visualmente homogêneas no dia 1 e após 90 dias, estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Caracterização das nanopartículas poliméricas (PNPs) carregadas com o minoxidil (MXD) no dia 1 e dia 90. Os resultados apresentados estão como a média (\pm) de três determinações (n=3).

Amostras	Diâmetro médio (nm)		PDI		Potencial zeta (mV)		EE (%)		pH	
	Dia 1	Dia 90	Dia 1	Dia 90	Dia 1	Dia 90	Dia 1	Dia 90	Dia 1	Dia 90
MXD (115,3)	115,3 \pm 1,63	106,07 \pm 0,32	0,086 \pm 0,04	0,150 \pm 0,05	40,86 \pm 1,87	39,07 \pm 0,86	28,74 \pm 1,06	18,39 \pm 0,57	9,31 \pm 0,17	7,49 \pm 0,14
MXD (200,4)	200,4 \pm 1,36	124,47 \pm 2,47	0,130 \pm 0,01	0,390 \pm 0,07	40,17 \pm 1,92	30,40 \pm 1,51	60,43 \pm 0,21	33,40 \pm 0,77	8,26 \pm 0,20	8,20 \pm 0,25
MXD (548,7)	548,70 \pm 2,76	473,30 \pm 0,84	0,09 \pm 0,05	0,120 \pm 0,02	44 \pm 1,06	43,23 \pm 0,55	33,96 \pm 0,10	26,40 \pm 0,25	7,18 \pm 0,18	8,30 \pm 0,33

A avaliação da estabilidade físico-química das 3 PNPs contendo MXD que não precipitaram, revelou mudanças estruturais e químicas significativas após o período de 90 dias. No que tange ao tamanho hidrodinâmico, observou-se uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em todas as formulações. Este fenômeno foi particularmente crítico para a amostra MXD 200, cujo diâmetro decresceu de $200,4 \pm 1,36$ nm para $124,47 \pm 2,47$ nm. Paralelamente, esta formulação apresentou um aumento expressivo e significativo no PDI (de 0,130 para 0,390; $p < 0,01$), sugerindo um processo de rearranjo estrutural ou degradação da matriz que resultou em uma população de partículas polidispersas (REIS et al., 2014). Por outro lado, a formulação MXD 548 demonstrou maior robustez física, mantendo um PDI estável (0,09 para 0,120; $p > 0,05$), apesar da redução no tamanho médio.

A redução do diâmetro hidrodinâmico, concomitante ao aumento do PDI, sugere processos de reestruturação da população coloidal, possivelmente envolvendo desagregação parcial de agregados iniciais, compactação não homogênea das partículas poliméricas ou perda seletiva de frações maiores por sedimentação/adesão às superfícies. Esses fenômenos podem levar a partículas individualmente menores, porém com distribuição de tamanhos mais ampla, em concordância com relatos de estabilidade

a longo prazo de PNPs e nanoplásticos aquosos (KÄNKÄNEN *et al.*, 2020; HILDEBRANDT; THÜNEMANN, 2023; SUN *et al.*, 2023; KUZNETSOVA *et al.*, 2023).

Em relação ao potencial zeta, todas as amostras mantiveram valores em módulo superiores a $|30|$ mV, garantindo a manutenção da repulsão eletrostática. Contudo, a MXD 200 exibiu uma redução significativa de $40,17 \pm 1,92$ mV para $30,40 \pm 1,51$ mV ($p < 0,05$), sinalizando uma possível alteração na densidade de carga superficial ao longo do tempo.

O parâmetro mais afetado foi a EE. Houve uma queda drástica e extremamente significativa ($p < 0,001$) na retenção do fármaco em todos os sistemas. A maior perda foi observada na MXD 200, com uma redução absoluta de aproximadamente 27% no fármaco encapsulado. Este vazamento (*leaking*) do MXD para a fase externa está correlacionado com as variações acentuadas de pH observadas, especialmente na MXD 115 (9,31 para 7,49; $p < 0,001$) e MXD 548 (7,18 para 8,30; $p < 0,001$). Tais oscilações de pH sugerem a ocorrência de instabilidade química ou a formação de subprodutos de degradação da matriz ou do próprio fármaco (REIS *et al.*, 2014; SHAH *et al.*, 2022).

Em conclusão, embora as nanopartículas tenham mantido estabilidade eletrostática para evitar a agregação, os dados estatísticos confirmam que o sistema apresenta instabilidade estrutural e de retenção de carga ativa após 90 dias de armazenamento. A formulação MXD (548,70) destacou-se pela menor variabilidade nos PDI, embora a perda de EE% em todos os casos aponte para a necessidade de otimização da composição visando o aumento da *shelf-life* do produto.

Em relação às quatro amostras de PNPs contendo SPL, nenhuma das formulações manteve estabilidade após 90 dias de armazenamento, apresentando formação de precipitados e indícios de separação de fases (Figura 33).

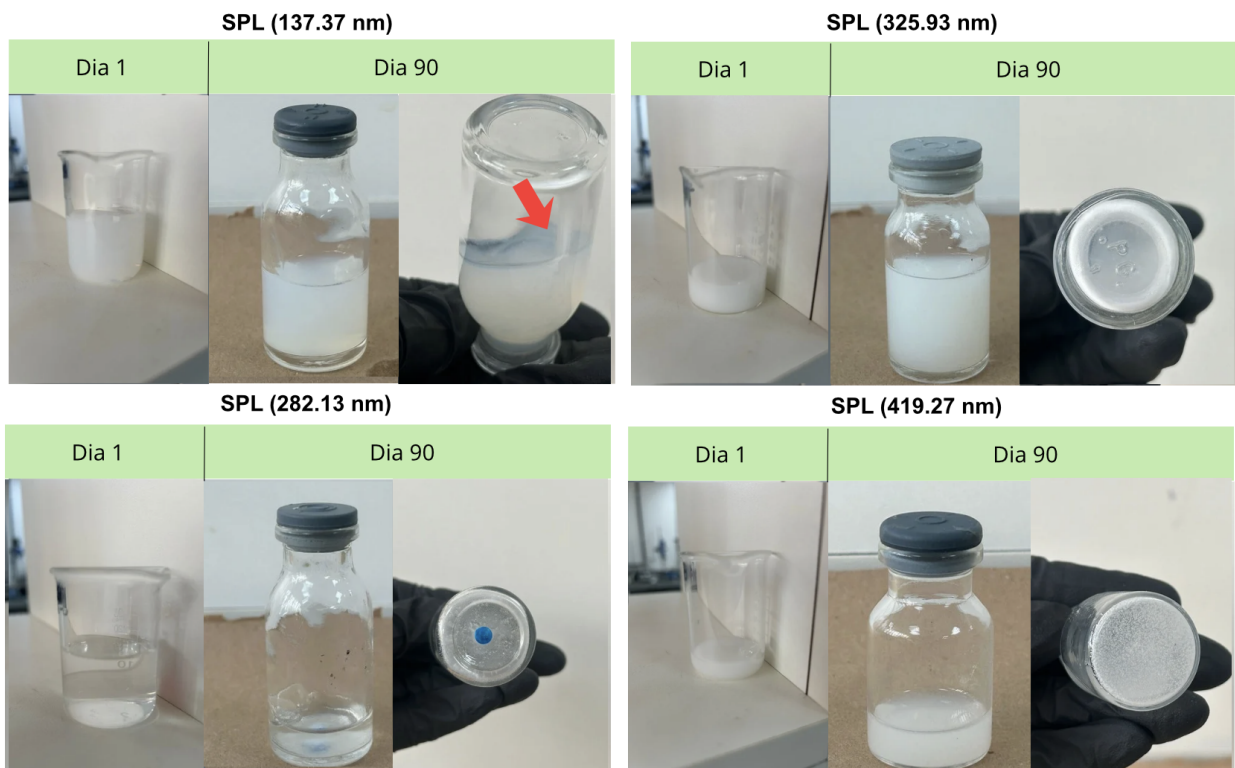


Figura 33. Fotografia das formulações de nanopartículas de SPL (137.37 nm), SPL (282.13 nm), SPL (325.93 nm) e SPL (419.27 nm) no dia em que foram produzidas e após 90 dias armazenadas na geladeira.

Apesar da instabilidade observada ao longo de 90 dias, a manutenção da integridade estrutural, baixos PDI e alta EE no dia 1 sugerem que estas nanopartículas possuem potencial para aplicação extemporânea. Sistemas nanocarreadores de curta estabilidade são comuns em terapias avançadas, onde a eficácia biológica imediata sobrepõe-se à necessidade de armazenamento prolongado (KIM *et al.*, 2024). Dessa forma, as formulações propostas poderiam ser viáveis para protocolos de uso imediato ou 'point-of-use', onde o preparo e a aplicação ocorrem em um intervalo de tempo reduzido, garantindo que o fármaco atinja o sítio de ação em sua forma nanoencapsulada ideal (MAJUMDER; TARATULA; MINKO, 2019).

5.5 DESENVOLVIMENTO DOS MODELOS PREDITIVOS DO MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA

O modelo de RNA para as PNP's com MXD, alcançou, após o treinamento com as 127 formulações, métricas de acurácia e precisão de 79% e 85%, respectivamente. Já o

modelo para as PNP's com SPL alcançou métricas de acurácia e precisão de 72% e 81%, respectivamente. Em modelos preditivos com RNAs de classificação, acurácia é a proporção de previsões corretas sobre o total de amostras (número de acertos dividido pelo número total de exemplos), sendo amplamente usada para avaliar o quão bem o modelo distingue classes ou acerta rótulos em geral (SIREGAR; WANTO, 2017; LAU; SUN; YANG, 2019). Precisão, por sua vez, mede, entre todas as amostras que a rede previu como pertencentes a uma classe positiva, qual fração realmente é positiva, ou seja, indica a “pureza” das previsões positivas e está diretamente ligada à redução de falsos positivos (KARN, 2024). Acurácia é importante para ter uma visão global do desempenho do modelo e comparar diferentes arquiteturas ou algoritmos de treinamento de redes neurais em tarefas preditivas (JIERULA *et al.*, 2021; SIREGAR; WANTO, 2017; LAU; SUN; YANG, 2019). Já a precisão é crucial em aplicações em que rotular algo como positivo traz alto custo caso esteja errado, pois ajuda a selecionar modelos que erram menos ao “afirmar” que uma instância é positiva (ZUREY; ISMAIL; MUSTAPHA, 2020; KARN, 2024).

Os modelos desenvolvidos para os dois fármacos foram capazes de orientar formulações com as características de tamanho, PDI, potencial zeta e EE desejados para os ensaios *in vitro* de penetração cutânea. Para visualizar a capacidade de predição do modelo em relação a essas propriedades, foi construído um gráfico comparando os valores preditos pela RNA e os valores encontrados experimentalmente para as PNP's com MXD (Figura 34).

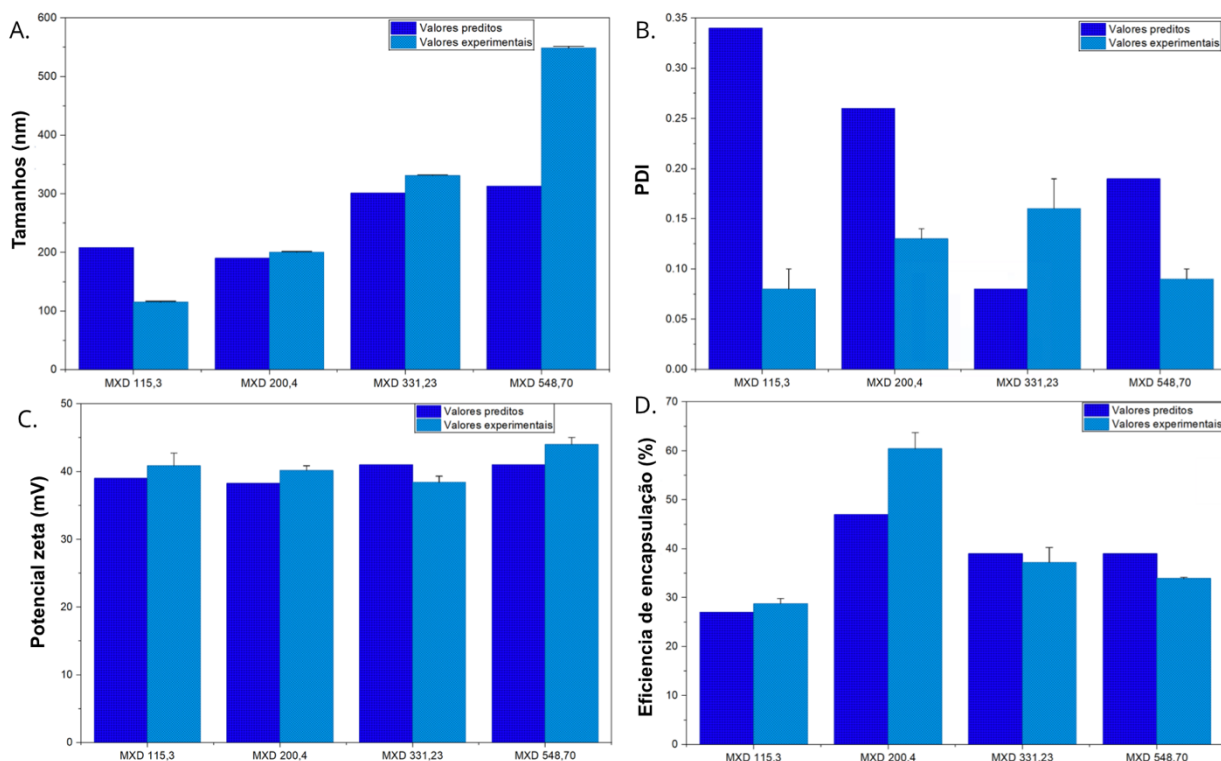


Figura 34. Comparação entre os valores preditos pelo modelo de aprendizado de máquina (ML) e os valores experimentais obtidos para nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo minoxidil (MXD) para o tamanho médio de partícula (nm) (A), índice de polidispersidade (PDI) (B), potencial zeta (mV) (C) e (eficiência de encapsulação (EE, %) (D) para as formulações selecionadas. As barras de erro indicam o desvio padrão (n = 3).

Para o tamanho médio (Figura 34A), o modelo apresentou elevada acurácia para as formulações MXD115,3, MXD200,4 e MXD331,23, com diferenças discretas entre os valores preditos e experimentais. Entretanto, para a formulação MXD548,70, observou-se uma subestimação do tamanho pelo modelo. Em relação ao PDI (Figura 34B), verificou-se tendência à superestimação dos valores pelo modelo, especialmente para as formulações MXD115,3 e MXD200,4. Experimentalmente, os sistemas apresentaram valores inferiores, indicando maior homogeneidade do que a inicialmente prevista. O potencial zeta apresentou elevada concordância entre valores preditos e experimentais em todas as formulações avaliadas (Figura 34C). As variações observadas foram mínimas, permanecendo dentro da faixa de erro experimental, o que demonstra a robustez do modelo na previsão das propriedades superficiais das nanopartículas. Para a EE, o modelo previu adequadamente a tendência geral entre as formulações, especialmente para MXD115,3 e MXD331,23. No entanto, para a formulação MXD200,4,

observou-se subestimação dos valores experimentais, sugerindo maior afinidade entre o fármaco e a matriz polimérica do que inicialmente prevista (Figura 34D).

De forma integrada, os resultados demonstram que o modelo preditivo desenvolvido para as PNPs com MXD apresentou elevado desempenho preditivo, especialmente para o potencial zeta e para a classificação das formulações em faixas distintas de tamanho. As discrepâncias observadas em alguns casos refletem a complexidade inerente aos sistemas nanoparticulados e a influência de variáveis experimentais não completamente representadas no conjunto de treinamento.

Quanto aos resultados dos parâmetros comparados entre os valores preditos e experimentais das PNPs com SPL, podemos observá-los na figura 35.

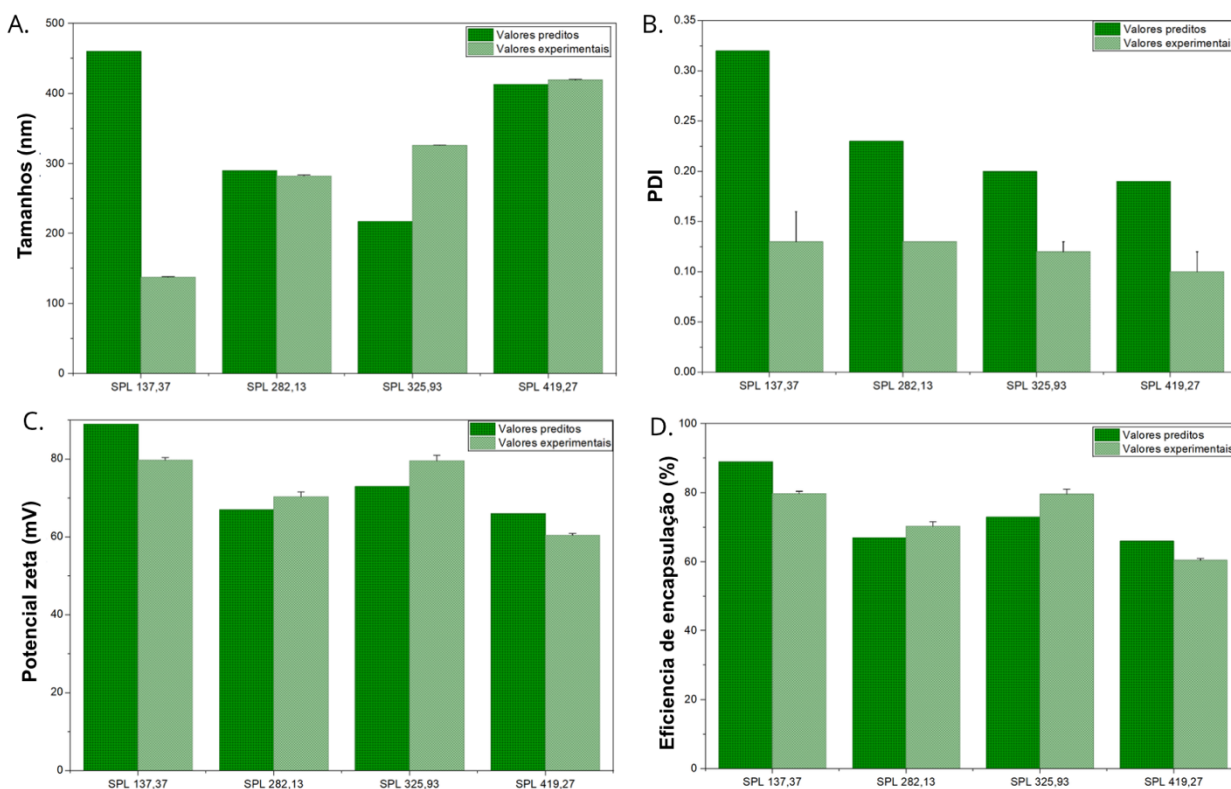


Figura 35. Comparação entre os valores preditos pelo modelo de aprendizado de máquina (ML) e os valores experimentais obtidos para nanopartículas poliméricas (PNPs) contendo espironolactona (SPL) para o Tamanho médio de partícula (nm) (A), índice de polidispersão (PDI) (B), potencial zeta (mV) (C) e eficiência de encapsulação (EE, %) (D) para as formulações selecionadas. As barras de erro indicam o desvio padrão (n = 3).

No que tange ao tamanho médio para as PNPs com SPL (Figura 35A), o modelo demonstrou altíssima acurácia para as formulações SPL 282,13 e SPL 419,27, cujos valores experimentais foram praticamente idênticos aos preditos. Em contrapartida,

observou-se uma elevada discrepância na formulação SPL 137,37, onde o modelo superestimou significativamente o tamanho, e na SPL 325,93, que apresentou uma subestimação experimental.

Em relação ao PDI (Figura 35B), verificou-se uma tendência sistemática à superestimação dos valores pelo modelo em todas as amostras analisadas. Assim como observado para as PNPs de MXD, os resultados experimentais foram inferiores aos preditos, indicando que o processo de síntese gerou sistemas mais homogêneos e monodispersos do que o inicialmente previsto.

Quanto ao potencial zeta (Figura 35C) e à EE (Figura 35D), observou-se uma excelente concordância global. Os valores preditos permaneceram muito próximos aos experimentais em todas as formulações avaliadas, com variações mínimas que se enquadram dentro da margem de erro experimental. De forma integrada, os resultados demonstram que, apesar de discrepâncias isoladas em tamanhos específicos, o modelo apresenta elevado desempenho preditivo e confiabilidade.

Esses achados confirmam a utilidade de abordagens orientadas por dados não apenas para aumentar a eficiência experimental, mas também para possibilitar o desenho racional de sistemas de liberação de fármacos baseados em nanopartículas. A metodologia aplicada é estruturalmente escalável e adaptável, podendo ser aplicada a outros sistemas nanotecnológicos, acelerando o desenvolvimento de formulações e apoiando iniciativas de Qualidade por Desenho (Quality by Design) na pesquisa farmacêutica. Assim sendo, o modelo preditivo da produção de nanopartículas, utilizando PNPs carregadas com MXD e SPL foi capaz de aprender de forma eficaz relações complexas e não lineares entre os parâmetros de formulação e características das nanopartículas.

5.6 MÉTODO BIOANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO MINOXIDIL E ESPIRONOLACTONA

Conforme os trabalhos de Nunes (2021) e Matos et al. (2015), os métodos bioanalíticos empregados para a quantificação de MXD e SPL demonstraram ser lineares, seletivos, precisos, sensíveis e exatos. Os tempos de retenção foram de 4,3 min para o MXD e 9,8 min para o SPL. Para o presente estudo, foi realizada apenas a

avaliação da linearidade, com o objetivo de verificar a adequação do método às faixas de concentração utilizadas nas análises das amostras.

5.6.1 Linearidade

A análise da linearidade de um método analítico verifica a capacidade de se obter, dentro de um intervalo definido, respostas diretamente proporcionais às concentrações do analito (BRASIL, 2017). As curvas analíticas obtidas para a quantificação de SPL e MXD em metanol estão apresentadas na figura 36.

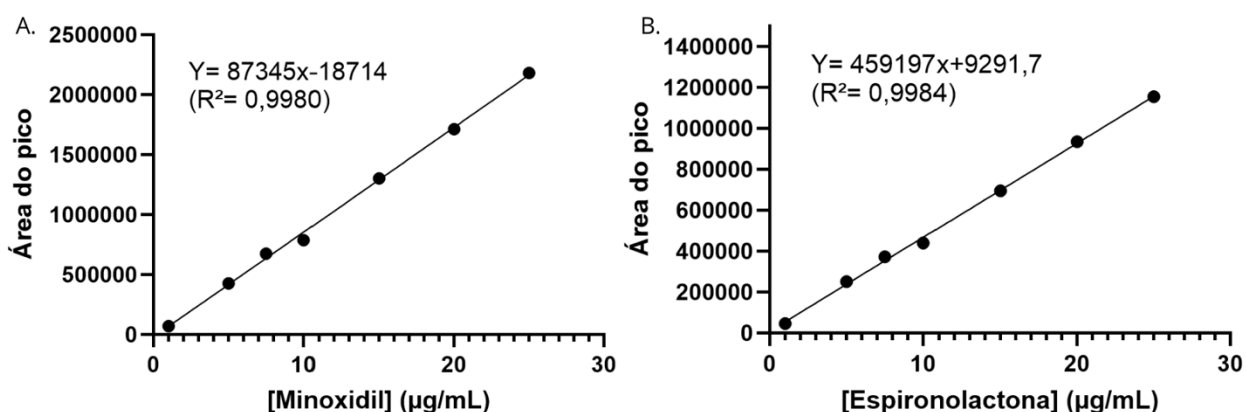


Figura 36. Representação gráfica de uma curva analítica obtida por HPLC para a quantificação de espironolactona (SPL) (A) e minoxidil (MXD) (B), em metanol, na faixa de concentração de 1,0 à 25,0 µg/mL. Equação da reta para a SPL: $y = 45919x + 9291,7$. Coeficiente de correlação da SPL: 0,9984. Equação da reta para o MXD: $y = 87345x + 18714$. Coeficiente de correlação da canrenona: 0,998.

Por meio do cálculo da regressão linear para as curvas, verificou-se que os coeficientes de correlação linear (R^2) obtidos foram iguais a 0,9984 e 0,998 para a SPL e MXD, respectivamente, valores estes que estão dentro dos limites estabelecidos pela RE n° 166 de 2017 da ANVISA (BRASIL, 2017) e FDA (FDA, 1994). Os altos valores numéricos encontrados para o coeficiente angular ($45919 \pm 816,8$ e $89213 \pm 1.760,5$ para SPL e MXD, respectivamente) indicam respostas adequadas do método em relação a diferentes concentrações. O teste t de Student mostrou que o slope foi diferente de zero ($p < 0,05$), conforme recomendado (ICH, 2006). Assim, os métodos desenvolvidos foram considerados lineares para a quantificação de SPL e MXD na faixa.

5.7 ESTUDOS IN VITRO DE PENETRAÇÃO CUTÂNEA DA ESPIRONOLACTONA E MINOXIDIL A PARTIR DAS NANOPARTÍCULAS SELECIONADAS

Os ensaios *in vitro* de penetração cutânea foram realizados com 8 formulações de PNPs simuladas pelo modelo preditivo, sendo quatro encapsuladas com MXD e quatro com SPL. Para cada fármaco, foram mantidas semelhantes as propriedades de potencial zeta, PDI e EE, e foram selecionados quatro tamanhos de partículas distintos por fármaco, de modo a permitir a avaliação da influência do tamanho das PNPs na penetração cutânea, minimizando a interferência de outros parâmetros.

Os resultados com as PNPs com MXD tiveram, no geral, maior acúmulo do fármaco na PV, com a exceção da MXD (200.4) (Figura 37). Esse comportamento pode ser atribuído às características físico-químicas do MXD base (moderada lipofilicidade, baixo peso molecular) e ao perfil de liberação controlada conferido pelas PNPs, que favorecem a difusão do fármaco para camadas mais profundas da pele após a penetração inicial pelo EC (MATOS *et al.*, 2023; PERVAIZ *et al.*, 2020; MATOS *et al.*, 2015).

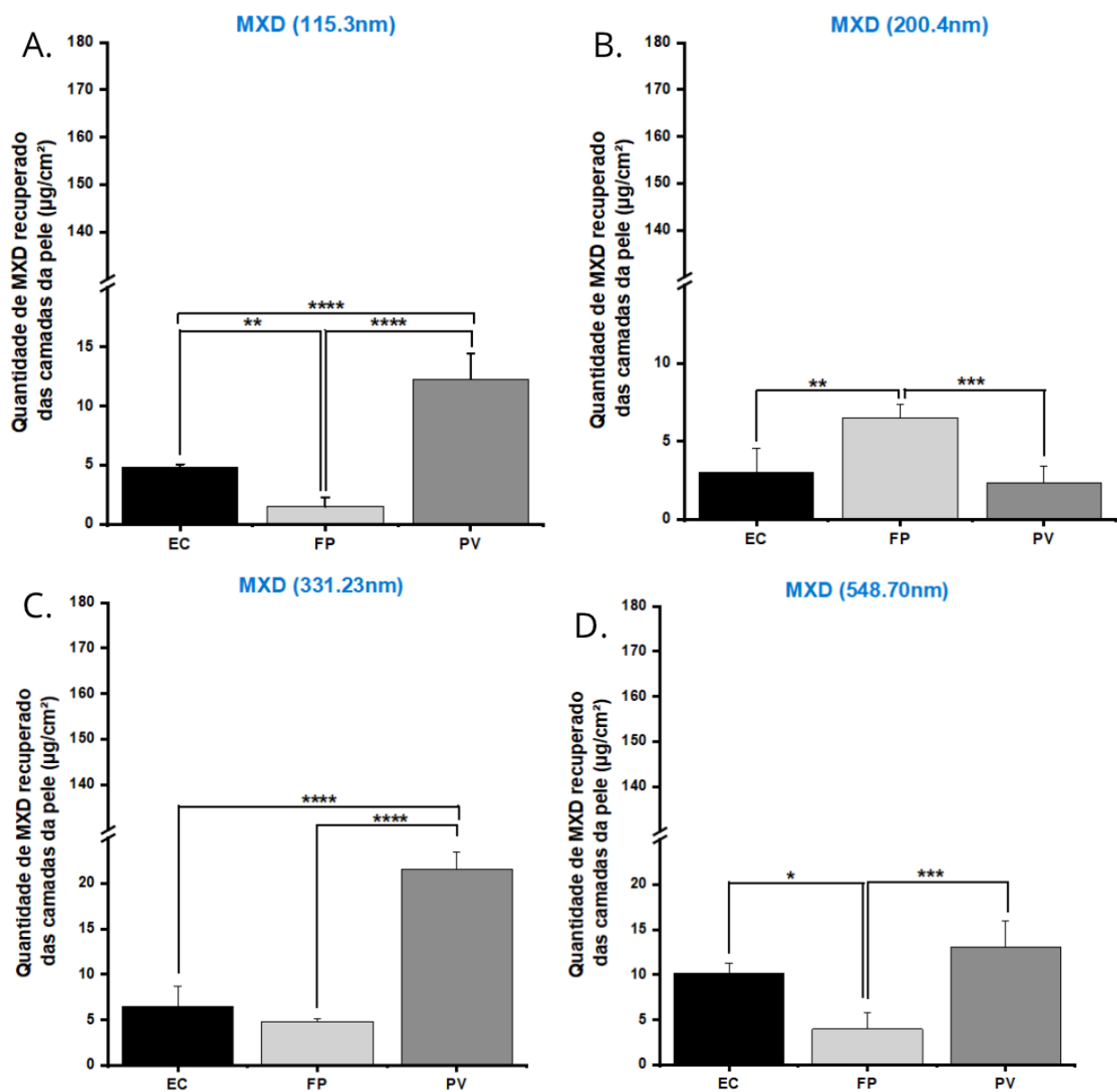


Figura 37. Comparação da recuperação de espironolactona (SPL) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) em cada camada da pele para cada formulação de nanopartícula polimérica (PNP): SPL (137.37) (A), SPL (282.13)(B), SPL (325.93)(C) e SPL (419.27) (D). O símbolo (*) representa as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 determinações ($n=6$).

Também foi detectada a presença de MXD no MR em quantidades quantificáveis para todas as formulações de PNPs avaliadas (Figura 38), evidenciando a capacidade do fármaco de atravessar as diferentes camadas da pele. Destaca-se que a formulação MXD (200,4 nm) apresentou quantidade significativamente superior de fármaco no MR, quando comparada às demais formulações ($p < 0,0001$), indicando maior permeação

transdérmica. Em contraste, as formula es MXD (115,3 nm), MXD (331,23 nm) e MXD (548,70 nm) apresentaram valores substancialmente menores e semelhantes entre si. Esse comportamento pode ser explicado por um balanço favorável entre tamanho de partícula, libera o do fármaco e difusão cutânea observado para a formula o MXD (200,4 nm), que parece ter otimizado a passagem do MXD pela pele (ABD *et al.*, 2018; REIS *et al.*, 2014).

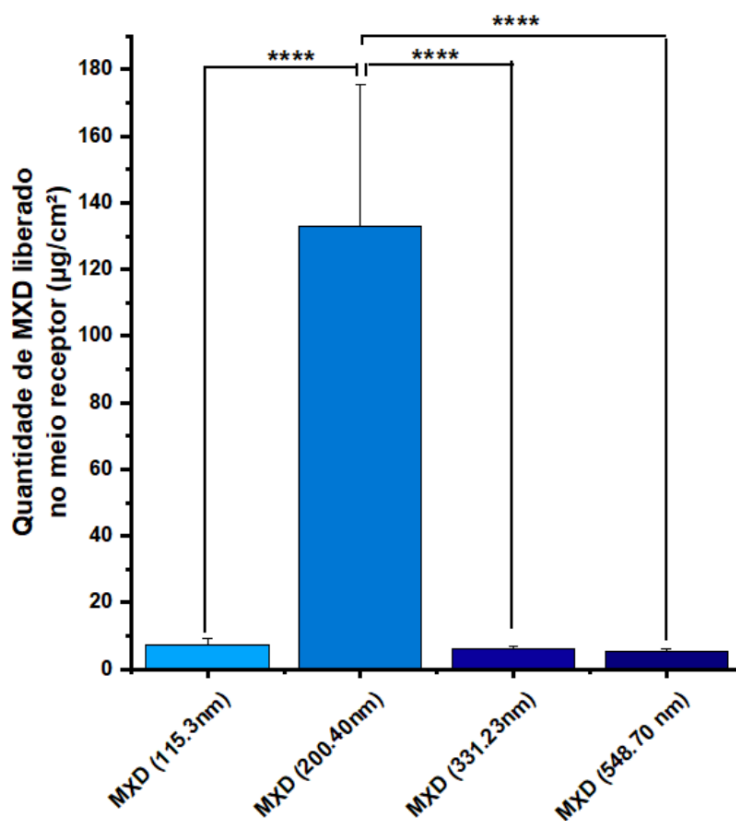


Figura 38. Quantidade (ug/cm²) de MXD liberado no meio receptor de cada PNP no estudo in vitro de penetra o cutânea.

Ao analisar a deposi o de MXD nos FPs (Figura 39A), percebe-se que a formula o MXD (200,4) apresentou a maior deposi o folicular, diferindo estatisticamente das demais (**** $p < 0,0001$ em rela o a 115,3 nm e * $p < 0,05$ em rela o a 331,23 nm). As partículas MXD (331,23) e MXD (548,70) apresentaram deposi o intermediária, sendo que a maior dimensão resultou em menor eficiência quando comparada às nanopartículas de 200,4 nm (** $p < 0,01$). Já as partículas menores

(115,3 nm) apresentaram a menor quantidade de MXD recuperada, sugerindo que tamanhos muito reduzidos podem não favorecer a retenção folicular para esse fármaco. Esses resultados parecem indicar a existência de um tamanho ótimo de partícula para maximizar a deposição de MXD nos FPs na faixa de 200nm.

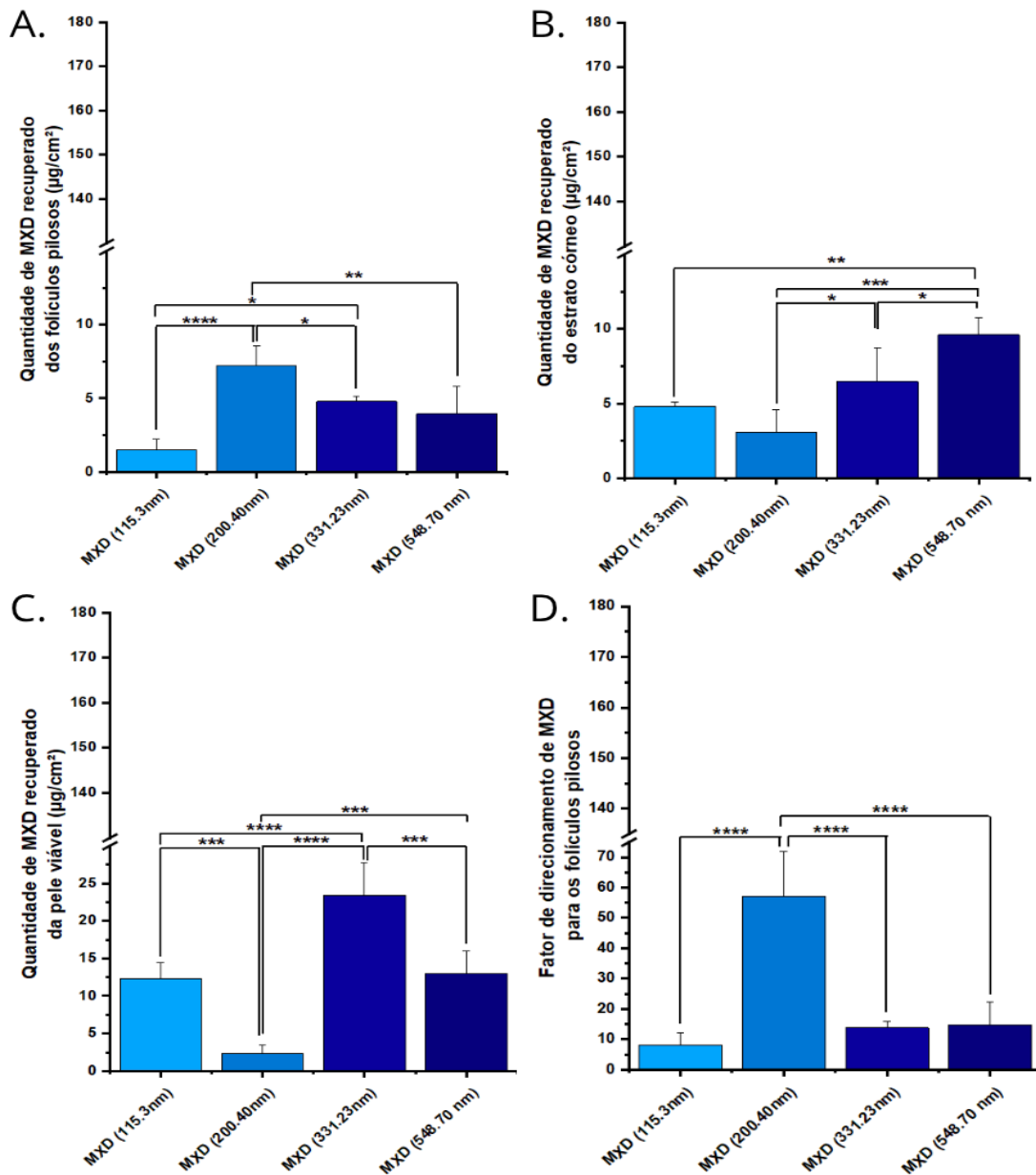


Figura 39. Recuperação de minoxidil (MXD) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nos folículos pilosos (A), estrato córneo (EC) (B), pele remanescente (C) e o fator de direcionamento (D) do MXD para os folículos pilosos (FP). O símbolo (*) representa as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 determinações ($n=6$).

Conforme apresentado na figura 39B, observa-se que o aumento do tamanho das partículas resultou em maior quantidade de MXD recuperada do estrato córneo. Entretanto, a formulação MXD (200.4) apresentou um comportamento distinto das demais, por não seguir a tendência linear de aumento da deposição do fármaco no EC à medida que o tamanho das partículas aumenta. Além disso, essa formulação demonstrou deposição significativamente maior nos FPs (Figura 39A), em detrimento da retenção no PV, conforme discutido anteriormente.

Em relação ao PV, conforme apresentado na figura 39C, observa-se que a formulação MXD (331.23) apresentou a maior deposição no PV, diferindo estatisticamente das demais formulações (** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$). Por outro lado, a formulação MXD (200.4) apresentou a menor quantidade de MXD recuperada nessa camada, comportamento que reforça seu direcionamento preferencial para os FP, em detrimento da retenção no PV e no EC, conforme observado anteriormente. As formulações com partículas 115,3 nm e 548,70 nm apresentaram valores intermediários de deposição, sugerindo que tamanhos extremos tendem a favorecer maior retenção no PV quando comparados às partículas de tamanho intermediário.

A figura 39D mostra o fator de direcionamento folicular do MXD para cada formulação, correspondendo à porcentagem de fármaco depositado nos FP da pele em relação à quantidade total de fármaco que penetra nas três camadas da pele. Observa-se que a formulação MXD (200,4) apresentou o maior fator de direcionamento folicular, diferindo significativamente das demais formulações (**** $p < 0,0001$), o que indica maior eficiência no direcionamento do fármaco para os folículos pilosos. As formulações contendo partículas de 115,3 nm, 331,23 nm e 548,70 nm apresentaram fatores de direcionamento significativamente menores, sugerindo menor seletividade folicular. Esses resultados reforçam que partículas de tamanho intermediário favorecem o targeting folicular, corroborando os dados de deposição observados nas demais camadas da pele.

Em conjunto, os resultados demonstram que embora a maioria das formulações tenha apresentado maior acúmulo na pele viável, a formulação MXD (200,4) destacou-se por exibir menor retenção nessa camada e no EC, associada a maior deposição nos FP e maior quantidade de fármaco no meio receptor, indicando permeação transdérmica

mais eficiente. Esse perfil diferenciado refletiu-se no maior fator de direcionamento folicular observado para essa formulação, evidenciando maior seletividade para os FP. Em contraste, partículas menores ou maiores apresentaram maior retenção no EC ou na pele viável, com menor eficiência de *targeting* folicular. Assim, os dados indicam a existência de um tamanho ótimo de partícula, em torno de 200 nm, capaz de equilibrar liberação do fármaco, difusão cutânea e direcionamento folicular, reforçando o potencial das PNPs como estratégia promissora para a entrega cutânea e folicular do MXD.

A SPL possui um log P de 2,78 (DOŁOWY; PYKA, 2015), sendo um fármaco com propriedades mais lipofílicas e com alta capacidade de interagir com os lipídeos do EC. De fato, após os experimentos de penetração cutânea, todas as PNPs exceto pela SPL (137.37), que se acumulou mais no PV, teve maior acúmulo no EC em detrimento das demais camadas da pele (PV e FP) (Figura 40). Também foi detectada a presença de SPL no meio receptor em quantidades quantificáveis (Figura 41), o que é compatível com os protocolos de ensaios de permeação cutânea *in vitro*, nos quais a recuperação do permeante no MR constitui um indicador padrão da transposição completa da barreira cutânea. Essa observação fundamenta-se no princípio de que um promotor de penetração cutânea, por definição, deve penetrar na pele para exercer seu efeito, sendo esperado que atravesse o EC e alcance tanto as camadas viáveis da pele quanto o fluido receptor. Além disso, a literatura indica que veículos e promotores de permeação podem apresentar fluxos difusivos elevados — em alguns casos superiores aos do próprio fármaco associado — o que justifica sua detecção em quantidades mensuráveis no compartimento receptor após o período de incubação (ZARMPI *et al.*, 2024; KUMAR *et al.*, 2015; SIM *et al.*, 2025).

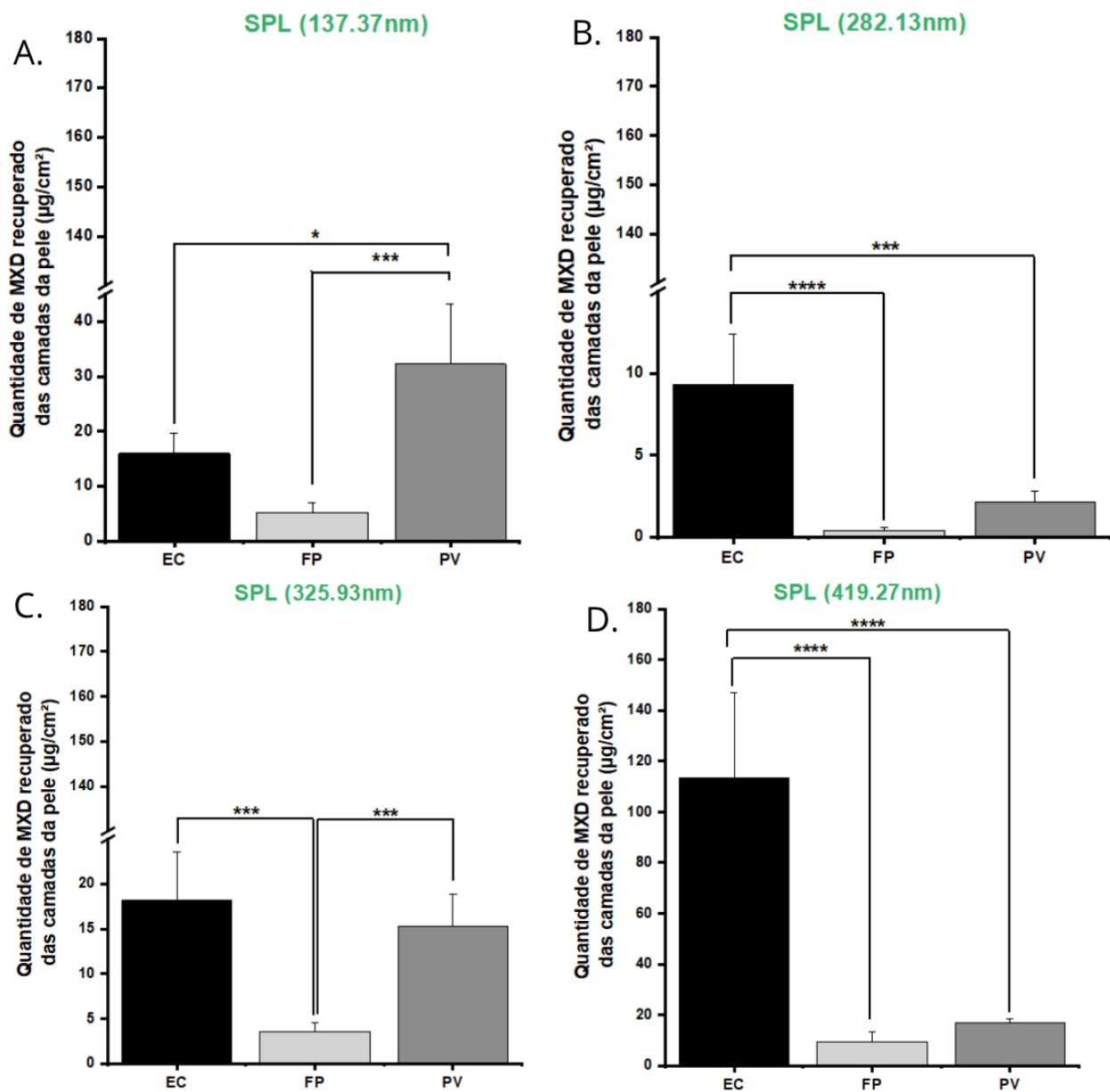


Figura 40. Comparação da recuperação de espirolactona (SPL) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) em cada camada da pele para cada formulação de nanopartícula polimérica (PNP): SPL (137.37) (A), SPL (282.13)(B), SPL (325.93)(C) e SPL (419.27)(D). O símbolo (*) representa as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 determinações ($n=6$).

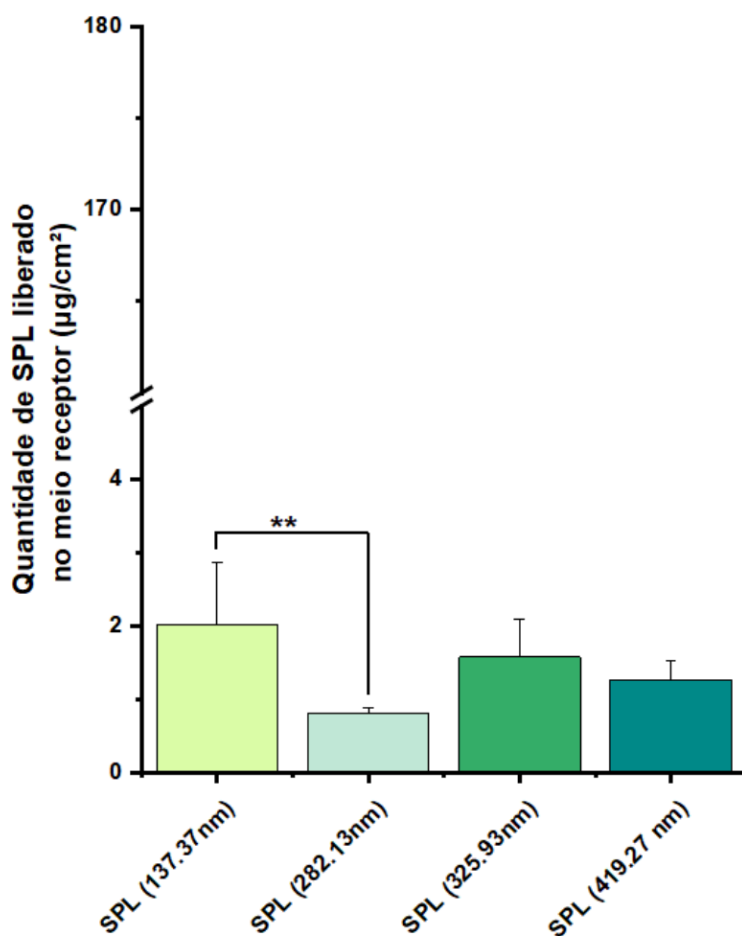


Figura 41. Quantidade ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de SPL liberado no meio receptor de cada PNP no estudo in vitro de penetração cutânea.

As concentrações de SPL recuperadas do EC, FP e PV após 12 h de tratamento da pele com as suspensões das quatro PNPs estão mostradas na Figura 49.

Ao analisar a deposição de SPL nos FP (Figura 42A), observou-se que, em termos de quantidade recuperada ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$), a PNP de maior tamanho de partícula, SPL (419,27), promoveu o maior acúmulo. Destaca-se que a formulação SPL (282,13) apresentou um acúmulo folicular substancialmente inferior em comparação às demais nanopartículas avaliadas. Quantitativamente, o acúmulo promovido por essa formulação foi aproximadamente 12,8 vezes menor que o observado para a SPL (137,37 nm), 8,6 vezes menor em relação à SPL (325,93 nm) e cerca de 23 vezes inferior ao da SPL (419,27 nm), sendo essas diferenças estatisticamente significativas.

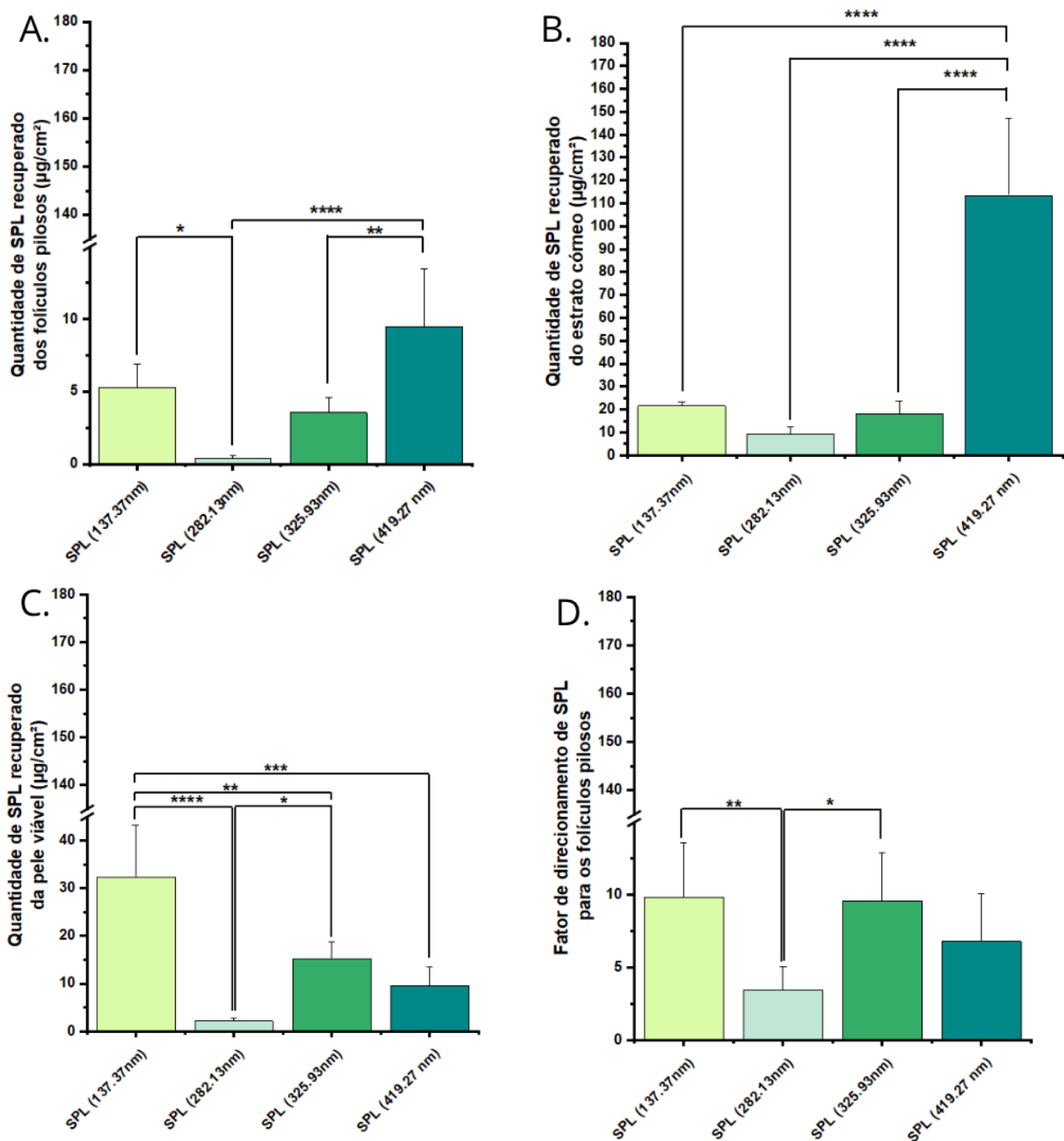


Figura 42. Recuperação de espironolactona (SPL) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) nos folículos pilosos (A), estrato córneo (EC) (B), pele remanescente (C) e o fator de direcionamento (D) do SPL para os folículos pilosos (FP). O símbolo (*) representa as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As barras representam o desvio padrão de 6 determinações ($n=6$).

Conforme apresentado na figura 42B, observou-se que a SPL penetrou de forma significativa no EC após 12 h de tratamento da pele para todas as PNP's avaliadas. Entretanto, a nanopartícula SPL (419,27) destacou-se por promover um acúmulo

substancialmente superior no EC, superando de maneira estatisticamente significativa as demais formulações. Quantitativamente, essa formulação apresentou um acúmulo de 113,47 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, valor aproximadamente 7 vezes maior que o observado para a SPL (137,37 nm) (16,03 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), 12 vezes superior em relação à SPL (282,13 nm) (9,33 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e 6 vezes maior do que o da SPL (325,93 nm) (18,16 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). Em contraste, as formulações SPL (137,37), SPL (282,13) e SPL (325,93) apresentaram perfis semelhantes de deposição no estrato córneo, sem diferenças expressivas entre si.

De forma coerente, a formulação SPL (419,27 nm) também apresentou o maior acúmulo nos folículos pilosos, comportamento que pode ser explicado por um efeito ampliado de retenção cutânea. Nanopartículas de maior tamanho tendem a apresentar menor permeação transdérmica profunda, favorecendo sua permanência nas camadas superficiais da pele, especialmente no estrato córneo, que atua como um reservatório inicial. Esse aumento do tempo de residência no EC eleva a disponibilidade local da formulação na interface cutânea, favorecendo sua migração e retenção nos óstios foliculares, que constituem vias naturais de descontinuidade da barreira cutânea. Assim, o elevado acúmulo observado nos folículos pilosos pode ser compreendido como consequência direta da maior retenção no estrato córneo, indicando que ambos os compartimentos atuam de maneira complementar no direcionamento tópico da SPL (BLUME-PEYTAVI; VOGT, 2011; RANCAN *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2023).

Em relação à retenção do fármaco na PV (Figura 42C), que corresponde à epiderme viável e derme, observou-se um perfil distinto daquele verificado no EC e nos FPs. A maior retenção de SPL na PV foi promovida pela formulação SPL (137,37 nm), enquanto a formulação SPL (282,13 nm) apresentou valores significativamente inferiores, evidenciando baixa capacidade de deposição nesse compartimento. As formulações SPL (325,93 nm) e SPL (419,27 nm) apresentaram retenção intermediária, estatisticamente inferior à observada para a SPL (137,37 nm). Esse comportamento sugere que nanopartículas de menor tamanho favorecem a penetração do fármaco nas camadas mais profundas da pele, possivelmente em função de maior mobilidade e difusão através das estruturas cutâneas, enquanto nanopartículas de maior tamanho tendem a permanecer predominantemente retidas nos compartimentos mais superficiais, como o EC e os FP. Dessa forma, os resultados indicam um efeito dependente do tamanho de

partícula, no qual partículas menores favorecem a retenção na pele viável, ao passo que partículas maiores promovem maior retenção superficial, reduzindo a deposição nas camadas viáveis da pele.

A figura 42D mostra o fator de direcionamento folicular do SPL para cada formulação. Observou-se que as formulações SPL (137,37 nm) e SPL (325,93 nm) apresentaram os maiores valores, indicando maior eficiência no direcionamento do fármaco para esse compartimento cutâneo. Em contraste, a formulação SPL (282,13 nm) apresentou o menor fator de direcionamento, sendo estatisticamente inferior às formulações SPL (137,37 nm) e SPL (325,93 nm).

A formulação SPL (419,27 nm) apresentou um valor intermediário, sem diferença estatística significativa em relação às demais. Esses resultados reforçam que o direcionamento folicular não depende exclusivamente do tamanho absoluto das nanopartículas, mas de um balanço entre retenção superficial, mobilidade cutânea e capacidade de acesso ao óstio folicular. Embora a formulação SPL (419,27 nm) tenha promovido elevado acúmulo absoluto no EC e nos folículos pilosos, seu fator de direcionamento foi moderado, possivelmente em função do acúmulo predominante no estrato córneo. Por outro lado, as formulações SPL (137,37 nm) e SPL (325,93 nm) apresentaram maior seletividade para os FP, refletida em valores mais elevados de fator de direcionamento.

Os resultados do estudo de penetração cutânea para PNPs com SPL neste trabalho demonstram que o tamanho das nanopartículas exerce influência determinante e não linear sobre a distribuição cutânea da SPL, afetando simultaneamente a retenção no EC, nos FP e na PV. Nanopartículas de maior tamanho favoreceram a retenção superficial, com acúmulo expressivo no EC e nos folículos pilosos, enquanto nanopartículas menores apresentaram maior capacidade de penetração nas camadas viáveis da pele.

De forma global, os estudos de penetração cutânea realizados com PNPs contendo MXD e SPL demonstram que o tamanho das partículas exerce papel relevante na modulação da permeação cutânea, da distribuição do fármaco nas diferentes camadas da pele e do direcionamento folicular. No entanto, considerando que as nanopartículas avaliadas apresentavam a mesma composição polimérica e diferiam

essencialmente quanto ao fármaco encapsulado, os resultados indicam que o comportamento cutâneo observado não pode ser atribuído exclusivamente ao tamanho das partículas.

As diferenças nos perfis de deposição e permeação entre MXD e SPL sugerem que propriedades intrínsecas dos fármacos, como lipofilicidade, afinidade pela matriz polimérica, estado físico no interior das nanopartículas e perfil de liberação, também desempenham papel determinante na interação com a barreira cutânea. Para o MXD, partículas de tamanho intermediário (~200 nm) favoreceram maior permeação transdérmica e direcionamento folicular, enquanto, para a SPL, observou-se um efeito não linear do tamanho, com maior retenção superficial associada às partículas maiores e maior penetração nas camadas viáveis promovida por partículas menores. Em conjunto, esses achados reforçam que o desempenho cutâneo de PNPs resulta de uma interação complexa entre tamanho, características do fármaco e dinâmica de liberação, destacando a necessidade de uma abordagem multifatorial no desenvolvimento racional de sistemas de liberação cutânea e folicular.

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstrou a viabilidade da integração entre nanotecnologia farmacêutica e técnicas de ML para o desenvolvimento racional de PNPs. A partir de um conjunto inicial de formulações com variações na composição e nos métodos de produção, foi possível treinar modelos baseados em RNAs capazes de correlacionar variáveis de formulação com propriedades físico-químicas críticas para o MXD e a SPL, permitindo a seleção racional de sistemas promissores.

Os modelos preditivos apresentaram desempenho satisfatório, com acurácia e precisão de 79% e 85% para as PNPs contendo MXD e de 72% e 81% para as contendo SPL, respectivamente, além de elevada concordância entre valores preditos e experimentais. As formulações selecionadas apresentaram, de modo geral, parâmetros físico-químicos compatíveis com os critérios estabelecidos para os estudos de penetração cutânea, possibilitando a avaliação da influência do tamanho no direcionamento folicular. Entretanto, os estudos de estabilidade evidenciaram limitações,

especialmente para as PNPs contendo SPL, e indicaram maior adequação das formulações para aplicações de uso imediato.

Os ensaios de permeação demonstraram que, para o MXD, o melhor desempenho foi observado para partículas de tamanho intermediário (~200 nm), enquanto, para a SPL, verificou-se um comportamento não linear.

Adicionalmente, os achados deste estudo indicam que o tamanho das partículas, embora relevante, não constitui o único fator determinante para o direcionamento folicular, evidenciando a influência de outras variáveis do sistema, uma vez que foram observados diferentes comportamentos e perfis de direcionamento folicular para nanopartículas contendo MXD e SPL, mesmo dentro das mesmas faixas de tamanho. Nesse contexto, estudos futuros são necessários para investigar de forma sistemática parâmetros adicionais, como propriedades de superfície, composição das formulações e interações com o microambiente cutâneo, a fim de elucidar os mecanismos envolvidos e aprimorar estratégias de direcionamento folicular.

REFERÊNCIAS

A MARINI, *et al.* Thermodynamics of a complex melting process: the case of spironolactone. **Thermochimica Acta**, [S.L.], v. 374, n. 2, p. 171-184, jul. 2001.

A MOHAMAD, Ebtesam *et al.* Chitosan and Aloe Vera decorated nanoparticulate system loaded with Minoxidil as a suggested topical formulation for alopecia therapy. **Advances In Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 025002, 27 abr. 2023.

ABD, Eman *et al.* Minoxidil Skin Delivery from Nanoemulsion Formulations Containing Eucalyptol or Oleic Acid: enhanced diffusivity and follicular targeting. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 19, 25 jan. 2018.

ABDEL-RASHID, Rania S. *et al.* Polymeric versus lipid nanocapsules for miconazole nitrate enhanced topical delivery: in vitro and ex vivo evaluation. **Drug Delivery**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 294-304, 17 jan. 2022.

ABDEL-RAOUF, Hamza *et al.* A novel topical combination of minoxidil and spironolactone for androgenetic alopecia: clinical, histopathological, and physicochemical study. **Dermatologic Therapy**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 1-24, 25 dez. 2020.

ADIL, Areej; GODWIN, Marshall. The effectiveness of treatments for androgenetic alopecia: a systematic review and meta-analysis. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 77, n. 1, p. 136-141, jul. 2017.

AFZAL, Obaid *et al.* Nanoparticles in Drug Delivery: from history to therapeutic applications. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 12, n. 24, p. 4494, 19 dez. 2022.

AKAT, Esra *et al.* Comparison of vertebrate skin structure at class level: a review. **The Anatomical Record**, [S.L.], v. 305, n. 12, p. 3543-3608, 14 mar. 2022

AKOMBAETWA, Nakamwi *et al.* Current Advances in Lipid Nanosystems Intended for Topical and Transdermal Drug Delivery Applications. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 656, 15 fev. 2023.

ALBASH, Rofida *et al.* Spironolactone hyaluronic acid enriched cerosomes (HAECs) for topical management of hirsutism: in silico studies, statistical optimization, ex vivo, and in vivo studies. **Drug Delivery**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 2289-2300, jan. 2021

ALEISSA, Majed *et al.* The Efficacy and Safety of Oral Spironolactone in the Treatment of Female Pattern Hair Loss: a systematic review and meta-analysis. **Cureus**, [S.L.], v. 8, n. 15, p. 435-559, 16 ago. 2023.

ALHETHELI, Ghadah *et al.* Oral Minoxidil Therapy in Hair Loss: where do we stand?. **Current Dermatology Reports**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 321-327, 20 nov. 2023.

ALKHOLIEF, Musaed *et al.* Effect of Solvents, Stabilizers and the Concentration of Stabilizers on the Physical Properties of Poly(d,l-lactide-co-glycolide) Nanoparticles: encapsulation, in vitro release of indomethacin and cytotoxicity against hepg2-cell. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 870, 15 abr. 2022.

AMANI, Amir; MOHAMMADYANI, Dariush. **Artificial Neural Networks**: application. Shanghai: Intech, 2011. 586 p. <http://www.intechopen.com/books/artificial-neural-networks-application/artificial-neural-networks-applications-in-nanotechnology>

AMBREEN, Subiya *et al.* Advanced AI and ML frameworks for transforming drug discovery and optimization: with innovative insights in polypharmacology, drug repurposing, combination therapy and nanomedicine. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 284, p. 1-22, fev. 2025.

ANVISA. **Consultas**. 2025.

ANVISA. RCD N° 166, de 24 de Julho de 2017, p. 21, 2017.

AQUINO, Giovanna *et al.* A Spironolactone-Based Prototype of an Innovative Biomedical Patch for Wound Dressing Applications. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 25, n. 17, p. 9608, 5 set. 2024.

BAE, Hayeon *et al.* Artificial Intelligence-Driven Nanoarchitectonics for Smart Targeted Drug Delivery. **Advanced Materials**, [S.L.], v. 37, n. 42, p. 1-19, 7 ago. 2025.

BANIK, Brittany L.; FATTAHI, Pouria; BROWN, Justin L.. Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine. **Wires Nanomedicine And Nanobiotechnology**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 271-299, 28 ago. 2015.

BARBOSA, Bárbara Elias do Carmo. Avaliação da influência do minoxidil oral 1 mg e 2,5 mg na velocidade de crescimento dos cabelos e unhas: um ensaio clínico. 2023. 38 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2023.

BAROLI, Biancamaria. Penetration of nanoparticles and nanomaterials in the skin: fiction or reality?. **Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 99, n. 1, p. 21-50, jan. 2010.

BARROS, Dragana P. C. de *et al.* Design and Biocompatibility of Biodegradable Poly(octamethylene suberate) Nanoparticles to Treat Skin Diseases. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 16, n. 6, p. 1-28, 3 jun. 2024.

BARTOSOVA, L.; BAJGAR, J.. Transdermal Drug Delivery In Vitro Using Diffusion Cells. **Current Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 19, n. 27, p. 4671-4677, 1 out. 2012.

BEACH, Maximilian A. *et al.* Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery. **Chemical Reviews**, [S.L.], v. 124, n. 9, p. 5505-5616, 16 abr. 2024.

BEGINES, Belén *et al.* Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery: recent developments and future prospects. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 1-38, 19 jul. 2020.

BELLANI, Depti *et al.* Pathophysiological mechanisms of hair follicle regeneration and potential therapeutic strategies. **Stem Cell Research & Therapy**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 1-12, 15 jun. 2025.

BENCHEKROUN, Lina *et al.* Safety profile of topical spray minoxidil: An observational study. **MedPeer publisher**. 2025. 10.70780/medpeer.000QGNV

BEREDAC, Gudisa. Clinical Pharmacology of Spironolactone. **Journal Of Diagnosis & Case Reports**, [S.L.], p. 1-4, 31 mar. 2022.

BHARDWAJ, Harish; JANGDE, Rajendra Kumar. Current updated review on preparation of polymeric nanoparticles for drug delivery and biomedical applications. **Next Nanotechnology**, [S.L.], v. 2, p. 100013, jun. 2023.

BHAT, Kumar Megur Ramakrishna; FEBINA, Fk; PRASANNA, Lokadolalu Chandrachar. Analysis of the skin layers and its appendages of developing human fetuses at different trimesters of pregnancy. **Translational Research In Anatomy**, [S.L.], v. 38, p. 100369, mar. 2025.

BHUJEL, Ripesh *et al.* Artificial Intelligence-Driven Strategies for Targeted Delivery and Enhanced Stability of RNA-Based Lipid Nanoparticle Cancer Vaccines. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 1-31, 30 jul. 2025.

BLUME-PEYTAVI, U.; VOGT, A.. Human hair follicle: reservoir function and selective targeting. **British Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 165, p. 13-17, 15 set. 2011.

BÖCK, Nils Christian *et al.* Impact of stabilizers on particle size and dispersion behavior in biorelevant media in solid nanocrystal formulations. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, [S.L.], v. 208, p. 114651, mar. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS): Agência Nacional de Vigilância Sanitária -

C, Wang *et al.* The Efficacy and Safety of Oral and Topical Spironolactone in Androgenetic Alopecia Treatment: a systematic review. **Dovepress**, Nanjing, v. 3, n. 8, p. 603-612, ago. 2023.

CARDOSO, Ana Maria Lenz *et al.* Eudragit®-based nanoparticles for controlled release through topical use. **Journal Of Nanoparticle Research**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 1-14, fev. 2023.

CARVALHO, Marcelma G. Oliveira *et al.* Recursos manuais aplicados para terapia capilar: tratamentos da alopecia androgenética masculina. **Revista Científica Multidisciplinar O Saber**, Santo Amaro, v. 1, n. 1, p. 1-21, maio 2025.

CASTRO, Karine Cappuccio de; COSTA, Josiel Martins; CAMPOS, Maria Gabriela Nogueira. Drug-loaded polymeric nanoparticles: a review. **International Journal Of Polymeric Materials And Polymeric Biomaterials**, [S.L.], v. 71, n. 1, p. 1-13, 7 ago. 2020.

CETIN, Meltem; ATILA, Alptug; KADIOGLU, Yucel. Formulation and In vitro Characterization of Eudragit® L100 and Eudragit® L100-PLGA Nanoparticles Containing Diclofenac Sodium. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 1250-1256, 10 ago. 2010.

CHAKRABORTY, Soumalya; MONDAL, Utsab; BANSAL, Arvind K.. Role of Drug Loading and Microenvironmental pH in Generation of Nanospecies during Dissolution of Eudragit-Based Amorphous Solid Dispersions. **Molecular Pharmaceutics**, [S.L.], v. 22, n. 7, p. 3885-3899, 2 jun. 2025.

CHATURVEDI, Shashank; GARG, Anuj. An insight of techniques for the assessment of permeation flux across the skin for optimization of topical and transdermal drug delivery systems. **Journal Of Drug Delivery Science And Technology**, [S.L.], v. 62, p. 1-22, abr. 2021.

CHEN, Shuang *et al.* Comorbidities in Androgenetic Alopecia: a comprehensive review. **Dermatology And Therapy**, [S.L.], v. 12, n. 10, p. 2233-2247, 17 set. 2022.

CHHETRI, Deepa Dev; HUANG, Xin. Management of androgenetic alopecia: a review. **International Journal Of Research In Dermatology**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 321, 22 fev. 2021.

CHOI, Nahyun *et al.* Minoxidil Promotes Hair Growth through Stimulation of Growth Factor Release from Adipose-Derived Stem Cells. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 19, n. 3, p. 691, 28 fev. 2018.

CHOU, Wei-Chun *et al.* Machine Learning and Artificial Intelligence in Nanomedicine. **Wires Nanomedicine And Nanobiotechnology**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 1-17, jul. 2025.

CITERA. **Como o cabelo cresce.** 2026. Disponível em: <https://www.clinicacitera.com.br/tratamentos/cabelos/24/como-o-cabelo-cresce>. Acesso em: 16 jan. 2026.

COLOMBO, Stefano. Applications of artificial intelligence in drug delivery and pharmaceutical development. **Artificial Intelligence In Healthcare**, [S.L.], p. 85-116, 2020.

CORTÉS, Hernán *et al.* Non-Ionic Surfactants for Stabilization of Polymeric Nanoparticles for Biomedical Uses. **Materials**, [S.L.], v. 14, n. 12, p. 3197, 10 jun. 2021.

CORVOL, Pierre *et al.* Antiandrogenic Effect of Spirolactones: mechanism of action. **Endocrinology**, [S.L.], v. 97, n. 1, p. 52-58, jul. 1975.

COSTA, Marianne Araujo Pereira da. Desenvolvimento e caracterização de microemulsão de óleo de semente de uva enriquecido com resveratrol visando ao tratamento da rosácea. 2023. 86 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Universidade de Brasília, Brasília, 2023.

D, Dimple M.. AI-guided design of nanocarriers for targeted drug delivery in tumors. **Nanoscale Reports**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 13-15, 10 jun. 2025.

DAHMANA, Naoual *et al.* Polymeric micelle mediated follicular delivery of spironolactone: targeting the mineralocorticoid receptor to prevent glucocorticoid-induced activation and delayed cutaneous wound healing. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 604, p. 1-11, jul. 2021.

DANAEI, M. *et al.* Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 57, 18 maio 2018.

DANIEL, Josiane S. P. *et al.* Erythromycin-excipients compatibility studies using the thermal analysis and dynamic thermal infrared spectroscopy coupled with chemometrics. **Journal Of Thermal Analysis And Calorimetry**, [S.L.], v. 143, n. 4, p. 3127-3135, 29 abr. 2020.

DAS, Kaushik Pratim; J, Chandra. Nanoparticles and convergence of artificial intelligence for targeted drug delivery for cancer therapy: current progress and challenges. **Frontiers In Medical Technology**, [S.L.], v. 4, p. 1-14, 6 jan. 2023.

DENG, Siyuan *et al.* Polymeric Nanocapsules as Nanotechnological Alternative for Drug Delivery System: current status, challenges and opportunities. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 10, n. 5, p. 847, 28 abr. 2020.

DEREIAH, Saedah *et al.* A Systematic Review of Spironolactone Nano-Formulations for Topical Treatment of Skin Hyperandrogenic Disorders and Chronic Wounds. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 27, 27 dez. 2024.

DESAI, Neil *et al.* Challenges in Development of Nanoparticle-Based Therapeutics. **The Aaps Journal**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 282-295, 10 mar. 2012.

DEY, Hrithik *et al.* Exploring the Role of Artificial Intelligence and Machine Learning in Pharmaceutical Formulation Design. **International Journal Of Newgen Research In Pharmacy & Healthcare**, [S.L.], p. 30-41, 30 jun. 2024.

DIENG, Sidy Mouhamed *et al.* Pickering nano-emulsions stabilized by Eudragit RL100 nanoparticles as oral drug delivery system for poorly soluble drugs. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 191, p. 1-8, jul. 2020.

DOMINGOS, Rute F. *et al.* Characterizing Manufactured Nanoparticles in the Environment: multimethod determination of particle sizes. **Environmental Science & Technology**, [S.L.], v. 43, n. 19, p. 7277-7284, 30 abr. 2009.

DOMINGUES, Ines; AMORIM, Jose P.; ABREU, Pedro H.; DUARTE, Hugo; SANTOS, Joao. Evaluation of Oversampling Data Balancing Techniques in the Context of Ordinal Classification. **2018 International Joint Conference On Neural Networks (Ijcn)**, jul. 2018.

DOMÍNGUEZ-DELGADO, Clara Luisa *et al.* Effects of Process and Formulation Parameters on Submicron Polymeric Particles Produced by a Rapid Emulsion-Diffusion Method. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 1-21, 11 jan. 2022.

DONG, Pin *et al.* PH-sensitive Eudragit® L 100 nanoparticles promote cutaneous penetration and drug release on the skin. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 295, p. 214-222, fev. 2019.

DOROKHIN, Aleksei *et al.* Effect of surfactants and polymer composition on the characteristics of polyhydroxyalkanoate nanoparticles. **Admet And Dmpk**, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 2723, 4 jun. 2025.

DRUGBANK. **Minoxidil**. 2025.

DURAN, Raquel Cuevas-Diaz *et al.* The Biology and Genomics of Human Hair Follicles: a focus on androgenetic alopecia. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 25, n. 5, p. 2542, 22 fev. 2024.

DZYHOVSKYI, Valentyn *et al.* Characterization Methods for Nanoparticle–Skin Interactions: an overview. **Life**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 599, 8 maio 2024.

EL-SAY, Khalid M.; EL-SAWY, Hossam S.. Polymeric nanoparticles: promising platform for drug delivery. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 528, n. 1-2, p. 675-691, ago. 2017.

ELGOBASHY, Alshimaa *et al.* A Review on Androgenic Alopecia: etiology, pathogenesis, pharmacological and non-pharmacological treatment approaches. **Ain Shams Medical Journal**, [S.L.], v. 75, n. 3, p. 587-602, 1 set. 2024.

ELIZONDO-LUEVANO, Joel H. *et al.* Influence of the Polymer and Solvent Variables on the Nanoencapsulation of the Flavonoid Quercetin: preliminary study based on eudragit® polymers. **Applied Sciences**, [S.L.], v. 13, n. 13, p. 1-15, 3 jul. 2023.

ELLIS, Justine A. *et al.* Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy. **Expert Reviews In Molecular Medicine**, [S.L.], v. 4, n. 22, p. 1-11, 19 nov. 2002. =

ELMOWAFY, Mohammed *et al.* Polymeric Nanoparticles for Delivery of Natural Bioactive Agents: recent advances and challenges. **Polymers**, [S.L.], v. 15, n. 5, p. 1-34, 23 fev. 2023.

ELTAIB, Lina. Polymeric Nanoparticles in Targeted Drug Delivery: unveiling the impact of polymer characterization and fabrication. **Polymers**, [S.L.], v. 17, n. 7, p. 833, 21 mar. 2025.

ENGLISH, Robert S. *et al.* A hypothetical pathogenesis model for androgenic alopecia: clarifying the dihydrotestosterone paradox and rate-limiting recovery factors. **Medical Hypotheses**, [S.L.], v. 111, p. 73-81, fev. 2018.

ERANTI, Bhargav *et al.* Artificial Neural Networks in Pharma: revolutionizing drug development, optimization and smart manufacturing-a comprehensive review. **Oriental Journal Of Chemistry**, [S.L.], v. 41, n. 3, p. 873-879, 25 jun. 2025.

ERDOĞAN, Bilgen. Anatomy and Physiology of Hair. **Hair And Scalp Disorders**, [S.L.], p. 13-27, 3 maio 2017.

EWORUKE, Efe *et al.* Spironolactone Utilization among Patients with Reduced and Preserved Ejection Fraction Heart Failure. **Pharmacoepidemiology**, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 89-100, 20 out. 2022.

FANG, Chia-Lang *et al.* Delivery and Targeting of Nanoparticles Into Hair Follicles. **Therapeutic Delivery**, [S.L.], v. 5, n. 9, p. 991-1006, set. 2014.

FDA, Bioanalytical Method Validation Guidance, 2018.

FERREIRA-NUNES, Ricardo *et al.* Follicular-targeted delivery of spironolactone provided by polymeric nanoparticles. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 208, p. 112101, dez. 2021.

FLOYD, Thomas G.; GURNANI, Pratik; RHO, Julia Y.. Characterisation of polymeric nanoparticles for drug delivery. **Nanoscale**, [S.L.], v. 17, n. 13, p. 7738-7752, 2025.

FUCHS, Elaine. Scratching the surface of skin development. **Nature**, [S.L.], v. 445, n. 7130, p. 834-842, fev. 2007.

GABBARD, Ryan D.; HOOPES, Robert R.; KEMP, Michael G.. Spironolactone and XPB: an old drug with a new molecular target. **Biomolecules**, [S.L.], v. 10, n. 5, p. 756, 13 maio 2020.

GAGLIARDI, Agnese *et al.* Biodegradable Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery to Solid Tumors. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 12, n. 0, p. 1-24, 3 fev. 2021.

GAJKIEWICZ, Magdalena *et al.* Spironolactone as an alternative way of treating acne in women - review. **Quality In Sport**, [S.L.], v. 21, p. 53881, 23 ago. 2024.

GASZTYCH, Monika; MALAMIS, Aleksandra; MUSIAŁ, Witold. The Influence of Initiators, Particle Size and Composition on the Electrokinetic Potential of N-(Isopropyl)acrylamide Derivatives. **Polymers**, [S.L.], v. 16, n. 7, p. 907, 26 mar. 2024.

GESZKE-MORITZ, Małgorzata *et al.* Biodegradable Polymeric Nanoparticle-Based Drug Delivery Systems: comprehensive overview, perspectives and challenges. **Polymers**, [S.L.], v. 16, n. 17, p. 2536-2560, 7 set. 2024.

GHOLAP, Amol D. *et al.* Advances in artificial intelligence for drug delivery and development: a comprehensive review. **Computers In Biology And Medicine**, [S.L.], v. 178, p. 1-27, ago. 2024.

GILLELLA, Sindhu *et al.* Polymeric nanoparticles – a review. **Journal Of Innovations In Applied Pharmaceutical Science (Jiaps)**, [S.L.], p. 25-31, 12 abr. 2024.

GOREN, Andy *et al.* Minoxidil in the treatment of androgenetic alopecia. **Dermatologic Therapy**, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 12686-13000, 28 ago. 2018.

GRANADOS, Pedro A. *et al.* Application of Theoretical Solubility Calculations and Thermal and Spectroscopic Measurements to Guide the Processing of Triamcinolone Acetonide by Hot-Melt Extrusion. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 17, n. 5, p. 1-19, 29 abr. 2025.

GUO, Rui-Xian *et al.* Research progress in the treatment of non-scarring alopecia: mechanism and treatment. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 16, p. 1-14, 23 maio 2025.

GUPTA, A. K. *et al.* Minoxidil: a comprehensive review. **Journal Of Dermatological Treatment**, [S.L.], v. 33, n. 4, p. 1896-1906, 20 jul. 2021.

GUPTA, Aditya K. *et al.* Advances in the treatment of male androgenetic alopecia: current options and emerging therapies. **Italian Journal Of Dermatology And Venereology**, [S.L.], v. 160, n. 4, p. 344-361, set. 2025.

GUPTA, Aditya K. *et al.* Comparative Efficacy of Minoxidil and 5-Alpha Reductase Inhibitors Monotherapy for Male Pattern Hair Loss: network meta :analysis study of current empirical evidence. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 1-13, 30 jun. 2025.

GUPTA, Rohan *et al.* Artificial intelligence to deep learning: machine intelligence approach for drug discovery. **Molecular Diversity**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 1315-1360, 12 abr. 2021.

GUTERRES, Sílvia S.; ALVES, Marta P.; POHLMANN, Adriana R.. Polymeric Nanoparticles, Nanospheres and Nanocapsules, for Cutaneous Applications. **Drug Target Insights**, [S.L.], v. 2, p. 147-157, jan. 2007.

HAJBA-HORVÁTH, Eszter *et al.* Sustainable Stabilizer-Free Nanoparticle Formulations of Valsartan Using Eudragit® RLPO. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 23, p. 1-14, 2 dez. 2021.

HASSAN, Ghada Fawzy Rezk *et al.* Evaluation of the Efficacy and Safety of Topical Spironolactone versus Topical Minoxidil in the Treatment of Female Pattern Hair Loss: a comparative, clinical, and trichoscopic study. **International Journal Of Trichology**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 42-50, jan. 2025.

HASSANZADEH, Parichehr; ATYABI, Fatemeh; DINARVAND, Rassoul. The significance of artificial intelligence in drug delivery system design. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 151-152, p. 169-190, nov. 2019.

HE, Shan *et al.* Drug Release Nanoparticle System Design: data set compilation and machine learning modeling. **Acs Applied Materials & Interfaces**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 5290-5306, 13 jan. 2025.

HEYDARI, Saman *et al.* The impact of particle size of nanostructured lipid carriers on follicular drug delivery: a comprehensive analysis of mouse and human hair follicle penetration. **Bioimpacts**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 30243, 4 mar. 2024.

HILDEBRANDT, Jana; THÜNEMANN, Andreas F.. Aqueous Dispersions of Polypropylene: toward reference materials for characterizing nanoplastics. **Macromolecular Rapid Communications**, [S.L.], v. 44, n. 6, p. 1-15, 5 jan. 2023.

HUSSEIN, Ramadan S. *et al.* Applications and Efficacy of Minoxidil in Dermatology. **Skin Health And Disease**, [S.L.], v. 4, n. 6, p. 1-8, 24 nov. 2024.

IDREES, Humaira *et al.* A Review of Biodegradable Natural Polymer-Based Nanoparticles for Drug Delivery Applications. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 10, n. 10, p. 1970, 5 out. 2020.

ISLAM, Nazrul *et al.* Advancing drug delivery: neural network perspectives on nanoparticle-mediated treatments for cancerous tissues. **Nanotechnology Reviews**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-27, 1 jan. 2024.

ITA, Kevin. Anatomy of the human skin. **Transdermal Drug Delivery**, [S.L.], p. 9-18, 2020.

IYENGAR, Laxmi; LI, Jane. Male and female pattern hair loss. **Australian Prescriber**, Melbourne, v. 48, n. 3, p. 93-97, jul. 2025.

JAHANDOOST, Alireza *et al.* Utilizing machine learning and molecular dynamics for enhanced drug delivery in nanoparticle systems. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 1-17, 4 nov. 2024.

JENA, Goutam Kumar *et al.* Artificial Intelligence and Machine Learning Implemented Drug Delivery Systems: a paradigm shift in the pharmaceutical industry. **Journal Of Bio-X Research**, [S.L.], v. 7, p. 1-15, jan. 2024.

JIA, Lihong *et al.* Insights into Intermolecular Interactions of Spironolactone Solvates. **Crystal Growth & Design**, [S.L.], v. 21, n. 7, p. 3677-3688, 1 jun. 2021.

JIERULA, Alipujiang *et al.* Study on Accuracy Metrics for Evaluating the Predictions of Damage Locations in Deep Piles Using Artificial Neural Networks with Acoustic Emission Data. **Applied Sciences**, [S.L.], v. 11, n. 5, p. 1-20, 5 mar. 2021.

JING, Yankang *et al.* Deep Learning for Drug Design: an artificial intelligence paradigm for drug discovery in the big data era. **The Aaps Journal**, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 1-22, 30 mar. 2018.

JUNGE, Alexandra *et al.* Contact Dermatitis Caused by Topical Minoxidil: allergy or just irritation. **Acta Dermato-Venereologica**, [S.L.], v. 105, n. 8, p. 1-6, 27 abr. 2025.

KABASHIMA, Kenji *et al.* The immunological anatomy of the skin. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 19-30, 14 nov. 2018.

KaKOL, Monika *et al.* Influence of different sample preparation techniques on imaging viruses and virus-like particles by scanning electron and scanning transmission electron microscopes. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 14, p. 1-10, 14 nov. 2023.

KÄNKÄNEN, Voitto *et al.* Evaluation of the effects of nanoprecipitation process parameters on the size and morphology of poly(ethylene oxide)-block-polycaprolactone nanostructures. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 590, p. 1-11, nov. 2020.

KAPOOR, Devesh U. *et al.* AI-driven design and optimization of nanoparticle-based drug delivery systems. **Science, Engineering And Health Studies**, [S.L.], p. 1-10, 6 dez. 2024.

KARN, Kamalesh Kumar Lal. Comparison of Machine Learning Algorithms for the Classification task. **Patan Prospective Journal**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 48-56, 31 dez. 2024.

KASH, Natalie *et al.* Clinical Patterns of Hair Loss in Men. **Dermatologic Clinics**, [S.L.], v. 39, n. 3, p. 361-370, jul. 2021.

KATZER, Tatiele *et al.* Physiopathology and current treatments of androgenetic alopecia: going beyond androgens and anti-androgens. **Dermatologic Therapy**, [S.L.], v. 32, n. 5, p. 1-10, 26 ago. 2019.

KELIDARI, H.R. *et al.* Formulation optimization and in vitro skin penetration of spironolactone loaded solid lipid nanoparticles. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 128, p. 473-479, abr. 2015.

KELLY, Yanna *et al.* Androgenetic Alopecia: an update of treatment options. **Drugs**, [S.L.], v. 76, n. 14, p. 1349-1364, 23 ago. 2016.

KHAN, Jahin Ali. A Literature Review of the Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Possible Uses of Spironolactone. **Utsc'S Journal Of Natural Sciences**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 73-82, 30 mar. 2021.

KIDANGAZHIATHMANA, Ajithkumar *et al.* Pathogenesis of Androgenetic Alopecia. **Clinical Dermatology Review**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 69-74, jul. 2022.

KIM, Bumjun *et al.* Formulation of pH-Responsive Methacrylate-Based Polyelectrolyte-Stabilized Nanoparticles for Applications in Drug Delivery. **Acs Applied Nano Materials**, [S.L.], v. 5, n. 12, p. 18770-18778, 24 nov. 2022.

KIM, Minhye *et al.* Transformative Impact of Nanocarrier-Mediated Drug Delivery: overcoming biological barriers and expanding therapeutic horizons. **Small Science**, [S.L.], v. 4, n. 11, p. 1-33, 17 set. 2024.

KIMMIG, Julian *et al.* Prediction of Nanoparticle Sizes for Arbitrary Methacrylates Using Artificial Neuronal Networks. **Advanced Science**, [S.L.], v. 8, n. 23, p. 210249, 23 out. 2021.

KINOSHITA-ISE, Misaki *et al.* Recent Advances in Understanding of the Etiopathogenesis, Diagnosis, and Management of Hair Loss Diseases. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 12, n. 9, p. 3259, 3 maio 2023.

KOUHKAN, Mehri *et al.* Application of Polarisable Continuum Modelling to assess Minoxidil solubility in mixed solvents. **Physics And Chemistry Of Liquids**, [S.L.], v. 60, n. 4, p. 572-581, 4 jan. 2022.

KOVÁČIK, Andrej; KOPEČNÁ, Monika; VÁVROVÁ, Kateřina. Permeation enhancers in transdermal drug delivery: benefits and limitations. **Expert Opinion On Drug Delivery**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 145-155, 14 jan. 2020.

KRISHNAN, Vinu; MITRAGOTRI, Samir. Nanoparticles for topical drug delivery: potential for skin cancer treatment. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 153, p. 87-108, jan. 2020.

KUMAR, Abhishek; SINGH, Brijesh; KAUR, Preet. A REVIEW ON TARGETED POLYMERIC NANOPARTICLES: classification, preparation technology, biosynthesis, characterization and application in drug delivery system. **International Journal Of Current Pharmaceutical Research**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 1-9, 15 jul. 2025.

KUMAR, Sunny *et al.* Peptides as skin penetration enhancers: mechanisms of action. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 199, p. 168-178, fev. 2015.

KUZNETSOVA, Ekaterina V. *et al.* Highly Stable Docetaxel-Loaded Nanoparticles Based on Poly(D,L-lactide)-b-Poly(ethylene glycol) for Cancer Treatment: preparation, characterization, and in vitro cytotoxicity studies. **Polymers**, [S.L.], v. 15, n. 10, p. 1-18, 13 maio 2023.

LAI-CHEONG, Joey E.; MCGRATH, John A.. Structure and function of skin, hair and nails. **Medicine**, [S.L.], v. 49, n. 6, p. 337-342, jun. 2021.

LAMA, Siddhi Bianca Camila *et al.* Physical Treatments and Therapies for Androgenetic Alopecia. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 13, n. 15, p. 4534, 2 ago. 2024.

LAU, E. T.; SUN, L.; YANG, Q.. Modelling, prediction and classification of student academic performance using artificial neural networks. **Sn Applied Sciences**, [S.L.], v. 1, n. 9, p. 1-10, 5 ago. 2019.

LEMOS, Camila N. *et al.* Nanoparticles influence in skin penetration of drugs. **Nanostructures For The Engineering Of Cells, Tissues And Organs**, [S.L.], p. 187-248, 2018.

LEYVA-MENDIVIL, Maria F. *et al.* A mechanistic insight into the mechanical role of the stratum corneum during stretching and compression of the skin. **Journal Of The Mechanical Behavior Of Biomedical Materials**, [S.L.], v. 49, p. 197-219, set. 2015.

LI, Jingru *et al.* Progress in the development of stabilization strategies for nanocrystal preparations. **Drug Delivery**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 19-36, 18 dez. 2020.

LIN, Xiangyu; ZHU, Liang; HE, Jing. Morphogenesis, Growth Cycle and Molecular Regulation of Hair Follicles. **Frontiers In Cell And Developmental Biology**, [S.L.], v. 10, p. 1-11, 12 maio 2022..

LIU, Chang *et al.* Efficacy and safety of oral minoxidil in the treatment of alopecia: a single-arm rate meta-analysis and systematic review. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 16, n. 8, p. 1-13, 3 jun. 2025.

LOPES, Mariana S. *et al.* Ketoconazole: compatibility with pharmaceutical excipients using dsc and tg techniques. **Journal Of Thermal Analysis And Calorimetry**, [S.L.], v. 141, n. 4, p. 1371-1378, 9 dez. 2019.

LÓPEZ-CANO, J.J. *et al.* Development of an osmoprotective microemulsion as a therapeutic platform for ocular surface protection. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 623, p. 121948, jul. 2022.

LORIGO, Margarida; AMARO, João; CAIRRAO, Elisa. Spironolactone Induces Vasodilation by Endothelium-Dependent Mechanisms Involving NO and by Endothelium-Independent Mechanisms Blocking Ca²⁺ Channels. **Journal Of Xenobiotics**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 320-332, 1 mar. 2024.

LUNTER, Dominique *et al.* Progress in Topical and Transdermal Drug Delivery Research—Focus on Nanoformulations. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 16, n. 6, p. 817, 16 jun. 2024.

LY, Nathalie Y. *et al.* Medical and procedural treatment of androgenetic alopecia – Where are we? **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 89, n. 2, p. 36-39, ago. 2023.

M. Benes, “Quality by design-planned quality management in pharmaceutical industry,” CHEMICKE LISTY, vol. 111, no. 9, pp. 559–566, 2017.

M.RASHID, Asmaa; GHAREEB, Mowafaq M.. Using ionic Liquids-Based Surfactant in formulating Nimodipine Polymeric Nanoparticles: a promising approach for improved performance. **Iraqi Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 203-217, 29 mar. 2025.

MA, Xiaodan *et al.* Molecular structures of eight hydrogen bond-mediated minoxidil adducts from different aryl acids. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 1298, p. 136942, fev. 2024.

MA, Xinlin *et al.* Recent Progress in Polyion Complex Nanoparticles with Enhanced Stability for Drug Delivery. **Polymers**, [S.L.], v. 16, n. 13, p. 1871, 30 jun. 2024.

MAEDA, Natsumi *et al.* Nanoparticle Skin Penetration: depths and routes modeled in *in silico*. **Small**, [S.L.], v. 21, n. 20, p. 1-14, 27 mar. 2025.

MAHARJAN, Reeru *et al.* Use of Spironolactone for the Treatment of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: efficacy and clinical implications in light of recent evidence. **Cureus**, [S.L.], v. 0, n. 0, p. 1-11, 13 jun. 2025.

MAJUMDER, Joydeb; TARATULA, Oleh; MINKO, Tamara. Nanocarrier-based systems for targeted and site specific therapeutic delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 144, p. 57-77, abr. 2019.

MAQOUD, Fatima *et al.* The hydroxypropyl- β -cyclodextrin-minoxidil inclusion complex improves the cardiovascular and proliferative adverse effects of minoxidil in male rats: implications in the treatment of alopecia. **Pharmacology Research & Perspectives**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 1-16, 7 maio 2020.

MARTEEL *et al.* Anatomy, Hair Follicle. 2024 Jun 22. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. PMID: 29261946.

MATOS, Breno N. *et al.* Follicle-Targeted Delivery of Betamethasone and Minoxidil Co-Entrapped in Polymeric and Lipid Nanoparticles for Topical Alopecia Areata Treatment. **Pharmaceuticals**, [S.L.], v. 16, n. 9, p. 1322, 19 set. 2023.

MATOS, Breno Noronha *et al.* Chitosan nanoparticles for targeting and sustaining minoxidil sulphate delivery to hair follicles. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 75, p. 225-229, abr. 2015.

MATSUI, Takeshi; AMAGAI, Masayuki. Dissecting the formation, structure and barrier function of the stratum corneum. **International Immunology**, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 269-280, 26 mar. 2015.

MAZUR, Ecaterina. Analysis of spironolactone in compound powder by ultraviolet visible spectrophotometry. **Moldovan Journal Of Health Sciences**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 38-43, dez. 2024.

MCELWEE, Kevin J. *et al.* Innovative strategies for the discovery of new drugs against androgenetic alopecia. **Expert Opinion On Drug Discovery**, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 517-536, 11 mar. 2025.

MCGRATH, J.A.; EADY, R.A.J.; POPE, F.M.. Anatomy and Organization of Human Skin. In: BURNS, D. A. *et al.* **Rook's Textbook of Dermatology**. 7. ed. Ns: Blackwell Science Ltd, 2004. Cap. 3, p. 4568.

MEDINA, Diana Alejandra Aguilar; CAZARÍN, Jorge; MAGAÑA, Mario. Spironolactone in dermatology. **Dermatologic Therapy**, [S.L.], v. 35, n. 5, p. 1-7, 17 mar. 2022.

MENICHETTI, Arianna; MORDINI, Dario; MONTALTI, Marco. Penetration of Microplastics and Nanoparticles Through Skin: effects of size, shape, and surface chemistry. **Journal Of Xenobiotics**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 6, 31 dez. 2024.

MICHEN, Benjamin *et al.* Avoiding drying-artifacts in transmission electron microscopy: characterizing the size and colloidal state of nanoparticles. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 19-36, 12 maio 2015.

MIHANDOOST, Sara *et al.* A Generative Adversarial Network Approach to Predict Nanoparticle Size in Microfluidics. **Acs Biomaterials Science & Engineering**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 268-279, 12 dez. 2024.

MIRZAEI, Shahla *et al.* Eudragit® L100/Polyvinyl Alcohol Nanoparticles Impregnated Mucoadhesive Films as Ocular Inserts for Controlled Delivery of Erythromycin: development, characterization and in vivo evaluation. **Biomedicines**, [S.L.], v. 10, n. 8, p. 1-19, 8 ago. 2022.

MIRZAEI, Shahla *et al.* Solubility of minoxidil in binary mixture of ethanol + water at various temperatures. **Physics And Chemistry Of Liquids**, [S.L.], v. 57, n. 6, p. 788-799, 13 out. 2018.

MOGHIMIPOUR, Eskandar; SALIMI, Anayatollah; LEIS, Fatemeh. Preparation and Evaluation of Tretinoin Microemulsion Based on Pseudo-Ternary Phase Diagram. **Advanced Pharmaceutical Bulletin; Eissn 2251-7308**, [S.L.], p. 141-148, 2012.

MOROKI, Takayasu. Morphological characteristics and notes of the skin in preclinical toxicity assessment. **Journal Of Toxicologic Pathology**, [S.L.], v. 36, n. 2, p. 85-94, 2023.

MOUHLIS, Varnavas D. *et al.* Advances in De Novo Drug Design: from conventional to machine learning methods. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 1676, 7 fev. 2021.

NAIK, Dr. Chandra *et al.* Smart Synergy: harnessing machine learning for advanced nanotechnology in healthcare. **International Journal Of Advances In Computer Science And Technology**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 7-10, 8 jan. 2024.

NASCIMENTO, Israel Ijunior Borges do *et al.* Effect of oral minoxidil for alopecia: systematic review. **International Journal Of Trichology**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 147-156, 19 set. 2020.

NTSHINGILA, Sincengile *et al.* Androgenetic alopecia: an update. **Jaad International**, [S.L.], v. 13, p. 150-158, dez. 2023.

NUNES, Ricardo Ferreira. Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas para direcionar a liberação de espirolactona para as unidades pilossebáceas da pele. 2021. 132 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

OLIVEIRA, Paula M. *et al.* Nanostructured lipid carriers loaded with an association of minoxidil and latanoprost for targeted topical therapy of alopecia. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, [S.L.], v. 172, p. 78-88, mar. 2022.

ONG, Michael M. *et al.* Antiandrogen therapy for the treatment of female pattern hair loss: a clinical review of current and emerging therapies. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 93, n. 3, p. 749-760, set. 2025.

OSBORN, Corinne O'Keefe. **What Is the Norwood Scale?** 2018. Disponível em: <https://www.healthline.com/health/norwood-scale>. Acesso em: 11 jan. 2026.

PdNAR, Sila Gülbağ *et al.* Formulation Strategies of Nanosuspensions for Various Administration Routes. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 15, n. 5, p. 1-28, 17 maio 2023.

PEREIRA, Maíra N. *et al.* Methodologies to Evaluate the Hair Follicle-Targeted Drug Delivery Provided by Nanoparticles. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 15, n. 7, p. 2002, 21 jul. 2023.

PEREIRA, Maíra N. *et al.* Solid effervescent formulations as new approach for topical minoxidil delivery. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 96, p. 411-419, jan. 2017.

PEREIRA, Rosa *et al.* Anionic Eudragit nanoparticles as carriers for oral administration of peptidomimetic drugs. **2006 International Conference On Nanoscience And Nanotechnology**, [S.L.], p. 2150-3605, 2006.

PERVAIZ, Fahad *et al.* Development and ex-vivo skin permeation studies of finasteride–poly(lactic acid-co-glycolic acid) and minoxidil–chitosan nanoparticulate systems. **Journal Of Bioactive And Compatible Polymers**, [S.L.], v. 35, n. 2, p. 77-91, mar. 2020.

PHATALE, Vivek *et al.* Overcoming skin barriers through advanced transdermal drug delivery approaches. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 351, p. 361-380, nov. 2022.

PINHO, Ludmila A. G. *et al.* Preformulation Studies to Guide the Production of Medicines by Fused Deposition Modeling 3D Printing. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 22, n. 8, p. 1-12, 2 nov. 2021.

PIPONSKI, Marjan *et al.* Fast, simple HPLC method for determination of Spironolactone related compounds. **Macedonian Pharmaceutical Bulletin**, [S.L.], v. 69, n. 03, p. 263-264, set. 2023.

POZO-PÉREZ, Lorena *et al.* Clinical and preclinical approach in AGA treatment:: a review of current and new therapies in the regenerative field. **Stem Cell Research & Therapy**, [s. l.], n. 15, p. 1-18, maio 2024.

PRAJAPATI, Riddhi *et al.* Pharmaceutical Skin Care: skin structure, barrier function, and advanced drug delivery modes. **Journal Of Drug Delivery And Therapeutics**, [S.L.], v. 15, n. 9, p. 175-193, 15 set. 2025.

PREMANAND, A. *et al.* Androgen modulation of Wnt/ β -catenin signaling in androgenetic alopecia. **Archives Of Dermatological Research**, [S.L.], v. 310, n. 5, p. 391-399, 16 mar. 2018.

PRIYA, Madhu; BHATT, Devershi Pallavi. Nanotechnology Enabled Drug Delivery System Leveraging Machine Learning Techniques. **Nanoworld Journal**, [S.L.], v. 9, p. 367-372, 27 dez. 2023.

PROST-SQUARCIONI, Catherine. Histologie de la peau et des follicules pileux. **Médecine/Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 131-137, fev. 2006.

PUBCHEM. **Minoxidil (Compound CID 4201)**. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, [2026]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4201#section=3D-Conformer>. Acesso em: 29 mar. 2026.

PUBCHEM. **Spironolactone (Compound CID 5833)**. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2026. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5833>. Acesso em: 29 mar. 2026.

PULINGAM, Thiruchelvi *et al.* Exploring Various Techniques for the Chemical and Biological Synthesis of Polymeric Nanoparticles. **Nanomaterials**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 576, 8 fev. 2022.

QUINTANAR-GUERRERO, David *et al.* Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers. **Drug Development And Industrial Pharmacy**, [S.L.], v. 24, n. 12, p. 1113-1128, jan. 1998.

RAINA, Neha *et al.* New Insights in Topical Drug Delivery for Skin Disorders: from a nanotechnological perspective. **Acs Omega**, [S.L.], v. 8, n. 22, p. 19145-19167, 19 maio 2023.

RANCAN, Fiorenza *et al.* Hair Follicle Targeting with Nanoparticles. **Nanotechnology In Dermatology**, [S.L.], p. 95-107, 19 set. 2012.

RANCAN, Fiorenza *et al.* Skin Penetration and Cellular Uptake of Amorphous Silica Nanoparticles with Variable Size, Surface Functionalization, and Colloidal Stability. **Acs Nano**, [S.L.], v. 6, n. 8, p. 6829-6842, 19 jul. 2012.

RANDOLPH, Michael; TOSTI, Antonella. Oral minoxidil treatment for hair loss: a review of efficacy and safety. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 84, n. 3, p. 737-746, mar. 2021.

RAO, Lang *et al.* Designing nanotheranostics with machine learning. **Nature Nanotechnology**, [S.L.], v. 19, n. 12, p. 1769-1781, 3 out. 2024. Springer Science and

RASZEWSKA-FAMIELEC, Magdalena; FLIEGER, Jolanta. Nanoparticles for Topical Application in the Treatment of Skin Dysfunctions—An Overview of Dermo-Cosmetic and Dermatological Products. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 24, p. 15980, 15 dez. 2022.

REIS, Salette *et al.* Lipid nanoparticles for topical and transdermal application for alopecia treatment: development, physicochemical characterization, and in vitro release and penetration studies. **International Journal Of Nanomedicine**, [S.L.], p. 1231-1242, mar. 2014.

RESENDE, Renata Cunha de *et al.* Analysis of spironolactone polymorphs in active pharmaceutical ingredients and their effect on tablet dissolution profiles. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 52, n. 4, p. 613-621, dez. 2016.

RIBEIRO, Lígia Nunes de Moraes *et al.* Use of nanoparticle concentration as a tool to understand the structural properties of colloids. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-8, 17 jan. 2018.

RIVAS, Claudia Janeth Martínez *et al.* Nanoprecipitation process: from encapsulation to drug delivery. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 532, n. 1, p. 66-81, out. 2017.

ROBERTS, Michael S. *et al.* Topical drug delivery: history, percutaneous absorption, and product development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 177, p. 1-43, out. 2021.

ROSENTHAL, Amanda *et al.* Management of androgenic alopecia: a systematic review of the literature. **Journal Of Cosmetic And Laser Therapy**, [S.L.], v. 26, n. 1-4, p. 1-16, 18 maio 2024.

ROSSI, Alfredo *et al.* Multi-therapies in androgenetic alopecia:: review and clinical experiences. **Dermatologic Therapy**, Roma, v. 00, n. 00, p. 1-9, jun. 2016.

RUELA, André Luís Moraes *et al.* Evaluation of skin absorption of drugs from topical and transdermal formulations. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 52, n. 3, p. 527-544, set. 2016.

SABBAH, Mohammed *et al.* Insight into Zeta Potential Measurements in Biopolymer Film Preparation. **Journal Of Biotechnology & Biomaterials**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 1-3, 2016.

SAHU, Rohan Chand *et al.* Machine Learning for Predictive Modeling in Nanomedicine-Based Cancer Drug Delivery. **Med Research**, [S.L.], p. 1-27, 17 nov. 2025.

SAKHI, Mirina *et al.* Effect of polymeric stabilizers on the size and stability of PLGA paclitaxel nanoparticles. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [S.L.], v. 31, n. 9, p. 101697, set. 2023.

SALAZAR, Javier *et al.* The Human Dermis as a Target of Nanoparticles for Treating Skin Conditions. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 10, 20 dez. 2022.

SALEEM, Khushbakht *et al.* Exploiting Recent Trends in the Treatment of Androgenic Alopecia through Topical Nanocarriers of Minoxidil. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 23, n. 8, p. 1-15, 1 nov. 2022.

SAND, Jordan *et al.* Noninvasive Hair Rejuvenation. **Clinics In Plastic Surgery**, [S.L.], v. 50, n. 3, p. 509-520, jul. 2023.

SANTANA, Francielle de Fátima Viana. **The impact of minoxidil on male reproductive biology: a multi-approach study including systematic review, in vivo, and ex vivo experiments**. 2025. 163 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2025.

SANTHANES, Diviya *et al.* Engineering pH-sensitive dissolution of lipid-polymer nanoparticles by Eudragit integration impacts plasmid DNA (pDNA) transfection. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, [S.L.], v. 199, p. 1-14, jun. 2024.

SANTOS, Ana Cláudia *et al.* Topical Minoxidil-Loaded Nanotechnology Strategies for Alopecia. **Cosmetics**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 21-45, 27 mar. 2020.

SAYED, Naglaa Mohamed El *et al.* Clinical and Trichoscopic Evaluations of Topical Finasteride 1%, Topical Spironolactone 5%, and Minoxidil 5% in Female Pattern Hair Loss Treatment. **Dermatology Practical & Conceptual**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 4698, 29 jan. 2025.

SEARLE, T. N. *et al.* Spironolactone in dermatology: uses in acne and beyond. **Clinical And Experimental Dermatology**, [S.L.], v. 45, n. 8, p. 986-993, 26 ago. 2020.

SEMSARILAR, M. *et al.* Anionic Polyelectrolyte-Stabilized Nanoparticles via RAFT Aqueous Dispersion Polymerization. **Langmuir**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 914-922, 12 dez. 2011.

SEROV, Nikita; VINOGRADOV, Vladimir. Artificial intelligence to bring nanomedicine to life. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 184, p. 1-26, maio 2022..

SESTER, Coraline *et al.* PH-Sensitive methacrylic acid–methyl methacrylate copolymer Eudragit L100 and dimethylaminoethyl methacrylate, butyl methacrylate, and methyl methacrylate tri-copolymer Eudragit E100. **Polymers For Advanced Technologies**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 440-450, 31 out. 2019.

SHAH, Rohan M. *et al.* Stability mechanisms for microwave-produced solid lipid nanoparticles. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 643, p. 1-8, jun. 2022.

SHAHIWALA, Aliasgar F.; QAWOOGHA, Samar Salam; FARUQUI, Nuruzzaman. Designing Optimum Drug Delivery Systems Using Machine Learning Approaches: a prototype study of niosomes. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 24, n. 4, p. 1-15, 3 abr. 2023.

SHAIKH, Zubair Saghir Ahmed *et al.* Nanotechnology-Based Strategies for Hair Follicle Regeneration in Androgenetic Alopecia. **locn 2023**, [S.L.], v. 7, n. 14, p. 57-67, 5 maio 2023.

SHAMMA, Rehab; ABURAHMA, Mona. Follicular delivery of spironolactone via nanostructured lipid carriers for management of alopecia. **International Journal Of Nanomedicine**, [S.L.], p. 5449, nov. 2014.

SHAMSUDDIN *et al.* Development and evaluation of solid dispersion of spironolactone using fusion method. **International Journal Of Pharmaceutical Investigation**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 63-68, 2016.

SHAPIRO, German; EVRON, Shmuel. A Novel Use of Spironolactone: treatment of hirsutism. **The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 51, n. 3, p. 429-432, set. 1980.

SHARMA, Chetan; DESAI, Meghal A.; PATEL, Sanjaykumar R.. Effect of surfactants and polymers on morphology and particle size of telmisartan in ultrasound-assisted anti-solvent crystallization. **Chemical Papers**, [S.L.], v. 73, n. 7, p. 1685-1694, 21 fev. 2019.

SHARMA, Navneet; MADAN, Parshotam; LIN, Senshang. Effect of process and formulation variables on the preparation of parenteral paclitaxel-loaded biodegradable polymeric nanoparticles: a co-surfactant study. **Asian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 404-416, jun. 2016.

SHEN, Yuqing *et al.* New Target for Minoxidil in the Treatment of Androgenetic Alopecia. **Drug Design, Development And Therapy**, Zhejiang, v. 3, n. 8, p. 2537-2547, ago. 2023.

SHI, Huanyu *et al.* Pathogenic Mechanisms and Mechanism-Directed Therapies for Androgenetic Alopecia: current understanding and future directions. **Dermatologic Therapy**, [S.L.], v. 2025, n. 1, p. 1-18, jan. 2025.

SHIKHA, Swati *et al.* Microfluidic Particle Engineering of Hydrophobic Drug with Eudragit E100—Bridging the Amorphous and Crystalline Gap. **Molecular Pharmaceutics**, [S.L.], v. 19, n. 11, p. 4345-4356, 21 out. 2022.

SHKODRA, B. *et al.* Effect of surfactant on the size and stability of PLGA nanoparticles encapsulating a protein kinase C inhibitor. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 566, p. 756-764, jul. 2019.

SILVA, Catarina Oliveira *et al.* Polymeric nanoparticles modified with fatty acids encapsulating betamethasone for anti-inflammatory treatment. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 493, n. 1-2, p. 271-284, set. 2015.

SILVEIRA, Rodrigo Fonseca *et al.* Multistep Machine Learning Pipeline For Polymeric Nanoparticle Design. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 1-16, 30 out. 2025.

SIM, Yee Shan *et al.* Skin penetration enhancers: mechanistic understanding and their selection for formulation and design. **Drug Delivery And Translational Research**, [S.L.], v. 15, n. 11, p. 3864-3898, 21 fev. 2025.

SINCLAIR, Rodney. Minoxidil: what it is and how it works. **International Society Of Hair Restoration Surgery**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 50-51, mar. 2021.

SIREGAR, Sandy Putra; WANTO, Anjar. Analysis of Artificial Neural Network Accuracy Using Backpropagation Algorithm In Predicting Process (Forecasting). **Ijstech (International Journal Of Information System & Technology)**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 34-42, 13 nov. 2017

SOLIMAN, Ahmed M *et al.* Assessment of the efficacy of topical antiandrogen; spironolactone in patients with androgenetic alopecia by dermoscopy. **Journal Of Pakistan Association Of Dermatologists**, Giza, v. 3, n. 32, p. 493-501, mar. 2022.

SOUTO, Eliana B. *et al.* Physicochemical and biopharmaceutical aspects influencing skin permeation and role of SLN and NLC for skin drug delivery. **Heliyon**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 1-16, fev. 2022.

STASZAK, Maciej *et al.* Machine learning in drug design: use of artificial intelligence to explore the chemical structure:biological activity relationship. **Wires Computational Molecular Science**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 1-18, 6 ago. 2021.

STOEHR, Jenna R. *et al.* Off-Label Use of Topical Minoxidil in Alopecia: a review. **American Journal Of Clinical Dermatology**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 237-250, 2 jan. 2019.

STRADCZUK, Monika *et al.* How to treat androgenetic alopecia – the most common form of hair loss. A review. **Journal Of Education, Health And Sport**, [S.L.], v. 73, p. 51729, 12 jun. 2024.

SUCHONWANIT, Poonkiat *et al.* Minoxidil and its use in hair disorders: a review. **Drug Design, Development And Therapy**, [S.L.], v. 13, n. 8, p. 2777-2786, ago. 2019.

SUN, Yuanxiu *et al.* Mechanism and Performance Analysis of Nanoparticle-Polymer Fluid for Enhanced Oil Recovery: a review. **Molecules**, [S.L.], v. 28, n. 11, p. 1-30, 25 maio 2023.

SUR, Srija *et al.* Recent developments in functionalized polymer nanoparticles for efficient drug delivery system. **Nano-Structures & Nano-Objects**, [S.L.], v. 20, p. 100397, out. 2019.

SY, Papa Mady *et al.* Eudragit®-PEG Nanoparticles: physicochemical characterization and interfacial tension measurements. **Open Journal Of Biophysics**, [S.L.], v. 14, n. 02, p. 121-131, 2024.

TAGHE, Shiva *et al.* Polymeric Inserts Containing Eudragit® L100 Nanoparticle for Improved Ocular Delivery of Azithromycin. **Biomedicines**, [S.L.], v. 8, n. 11, p. 466, 31 out. 2020.

TAPFUMANEYI, Pronalis *et al.* Solute–Vehicle–Skin Interactions and Their Contribution to Pharmacokinetics of Skin Delivery. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 17, n. 6, p. 1-25, 10 jun. 2025.

TIAN, Qi *et al.* A molecular mechanism investigation of the transdermal/topical absorption classification system on the basis of drug skin permeation and skin retention. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 608, p. 1-16, out. 2021.

TRIPATHY, Arnav *et al.* Convergence of Nanotechnology and Machine Learning: the state of the art, challenges, and perspectives. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 25, n. 22, p. 1-20, 18 nov. 2024.

ÜÇER, Asiye *et al.* Zero-order and first-derivative spectrophotometry for the determination of spironolactone in pharmaceutical tablets. **Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi**, [S.L.], v. 49, n. 3, p. 5-5, 13 ago. 2025.

ULLAH, Farhad *et al.* Formulation Development and Characterization of pH Responsive Polymeric Nano-Pharmaceuticals for Targeted Delivery of Anti-Cancer Drug (Methotrexate). **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 13, p. 1-13, 30 jun. 2022.

VABALAS, Andrius; GOWEN, Emma; POLIAKOFF, Ellen; CASSON, Alexander. "Machine learning algorithm validation with a limited sample size," *PloS one*, vol. 14, no. 11, p. 365, 2019.

VAÑÓ-GALVÁN, Sergio *et al.* Safety of low-dose oral minoxidil for hair loss: a multicenter study of 1404 patients. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 84, n. 6, p. 1644-1651, jun. 2021.

VARGAS-MORA, P.; MORGADO-CARRASCO, D.. Uso de la espironolactona en dermatología: acné, hidradenitis supurativa, alopecia femenina e hirsutismo. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, [S.L.], v. 111, n. 8, p. 639-649, out. 2020.

VATANSEVER, Sezen *et al.* Artificial intelligence and machine learning-aided drug discovery in central nervous system diseases: state of the arts and future directions. **Medicinal Research Reviews**, [S.L.], v. 41, n. 3, p. 1427-1473, 9 dez. 2020.

VECTEEZY. **Estrutura do estrato córneo**. Disponível em: <https://pt.vecteezy.com/artetvetorial/24128260-estrutura-do-estrato-corneo-vetor-em-branco-fundo-tijolos-e-argamassa-estrutura-intercelular-estrato-corneo-fisiologico-lipidios-pele-cuidado-conceito-ilustracao>. Acesso em: 16 jan. 2026.

VERBRUGGE, Frederik H.; DAMMAN, Kevin. Spironolactone: diuretic or disease modifying drug in heart failure with preserved ejection fraction?. **European Journal Of Heart Failure**, [S.L.], v. 22, n. 9, p. 1611-1614, set. 2020.

VILLANI, A. *et al.* Review of oral minoxidil as treatment of hair disorders: in search of the perfect dose. **Journal Of The European Academy Of Dermatology And Venereology**, [S.L.], v. 35, n. 7, p. 1485-1492, 23 mar. 2021.

VILLASEÑOR-CAVAZOS, Felipe J.; TORRES-VALLADARES, Daniel; LOZANO, Omar. Modeling and optimization of nanovector drug delivery systems: exploring the most efficient algorithms. **Journal Of Nanoparticle Research**, [S.L.], v. 24, n. 6, p. 1-19, jun. 2022.

VORA, Lalitkumar K. *et al.* Artificial Intelligence in Pharmaceutical Technology and Drug Delivery Design. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 15, n. 7, p. 1-46, 10 jul. 2023.

WANG, Chaofan *et al.* The Efficacy and Safety of Oral and Topical Spironolactone in Androgenetic Alopecia Treatment: a systematic review. **Clinical, Cosmetic And Investigational Dermatology**, [S.L.], v. 16, p. 603-612, mar. 2023.

WANG, Qingquan *et al.* Machine Learning-Enhanced Nanoparticle Design for Precision Cancer Drug Delivery. **Advanced Science**, [S.L.], v. 12, n. 30, p. 1-22, 19 jun. 2025.

WANG, Yu; LIPNER, Shari R.. Retrospective analysis of adverse events with spironolactone in females reported to the United States Food and Drug Administration. **International Journal Of Women'S Dermatology**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 272-276, set. 2020.

WELLE, Monika M.. Basic principles of hair follicle structure, morphogenesis, and regeneration. **Veterinary Pathology**, [S.L.], v. 60, n. 6, p. 732-747, 5 jun. 2023.

WILLEMS, Anneliese *et al.* Alopecias in humans: biology, pathomechanisms and emerging therapies. **Veterinary Dermatology**, [S.L.], v. 32, n. 6, p. 596, 25 ago. 2021.

WILLIAMS, Kimberly N.; OLUKOGA, Chrislene T. Y.; TOSTI, Antonella. Evaluation of the Safety and Effectiveness of Oral Minoxidil in Children: a systematic review. **Dermatology And Therapy**, [S.L.], v. 14, n. 7, p. 1709-1727, 11 jun. 2024.

WILSON, Brian K.; YANG, Haw; PRUD'HOMME, Robert K.. Polyelectrolyte-Doped Block Copolymer-Stabilized Nanocarriers for Continuous Tunable Surface Charge. **Acs Applied Nano Materials**, [S.L.], v. 7, n. 10, p. 11071-11079, 14 maio 2024.

WILSON, Venecia R. *et al.* Interaction of Polymers with Enzalutamide Nanodroplets—Impact on Droplet Properties and Induction Times. **Molecular Pharmaceutics**, [S.L.], v. 18, n. 3, p. 836-849, 4 fev. 2021.

XIAO, Qin *et al.* Molybdenum nanoparticles as a potential topical medication for alopecia treatment through antioxidant pathways that differ from minoxidil. **Journal Of Trace Elements In Medicine And Biology**, [S.L.], v. 82, p. 127368, mar. 2024.

XIAO, Yu *et al.* Immune and Non-immune Interactions in the Pathogenesis of Androgenetic Alopecia. **Clinical Reviews In Allergy & Immunology**, [S.L.], v. 68, n. 1, p. 1-24, 1 mar. 2025.

YOUSEF, Hanil *et al.* *Histology, Skin Appendages*. In: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532829/>. Acesso em: 15 jan. 2026.

YOUSHA, John *et al.* Artificial neural network based particle size prediction of polymeric nanoparticles. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, [S.L.], v. 119, p. 333-342, out. 2017.

YU, Yi-Qun *et al.* Enhancing Permeation of Drug Molecules Across the Skin via Delivery in Nanocarriers: novel strategies for effective transdermal applications. **Frontiers In Bioengineering And Biotechnology**, [S.L.], v. 9, p. 1-17, 29 mar. 2021.

YUM, Soohwan *et al.* Minoxidil Induction of VEGF Is Mediated by Inhibition of HIF-Prolyl Hydroxylase. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 53, 25 dez. 2017.

ZARMPPI, Panagiota *et al.* Evaluation of chemical disposition in skin by stimulated Raman scattering microscopy. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 368, p. 797-807, abr. 2024.

ZHANG, Xinyu *et al.* Preparation of PLA Nanoparticles and Study of Their Influencing Factors. **Molecules**, [S.L.], v. 29, n. 23, p. 5566, 25 nov. 2024.

ZHANG, Yongqian *et al.* Influence of the Spatial Distribution of Cationic Functional Groups at Nanoparticle Surfaces on Bacterial Viability and Membrane Interactions. **Journal Of The American Chemical Society**, [S.L.], v. 142, n. 24, p. 10814-10823, 13 maio 2020.

ZHAO, Ziyi *et al.* Optimizing efficacy: hyaluronic acid liposomes encapsulating minoxidil for enhanced transdermal delivery and treatment of androgenetic alopecia. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 255, n. 8, p. 114956, nov. 2025.

ZIELIŃSKA, Aleksandra *et al.* Polymeric Nanoparticles: production, characterization, toxicology and ecotoxicology. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 16, p. 3731, 15 ago. 2020.

ZUREY, Wan Nur Hawa Fatihah Wan; ISMAIL, Shuhaida; MUSTAPHA, Aida. Forecasting accuracy: a comparative study between artificial neural network and autoregressive model for streamflow. **laes International Journal Of Artificial Intelligence (Ij-Ai)**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 464-472, 1 set. 2020.

APÊNDICE A – Distribuição balanceada das variáveis experimentais no bloco inicial de formulações

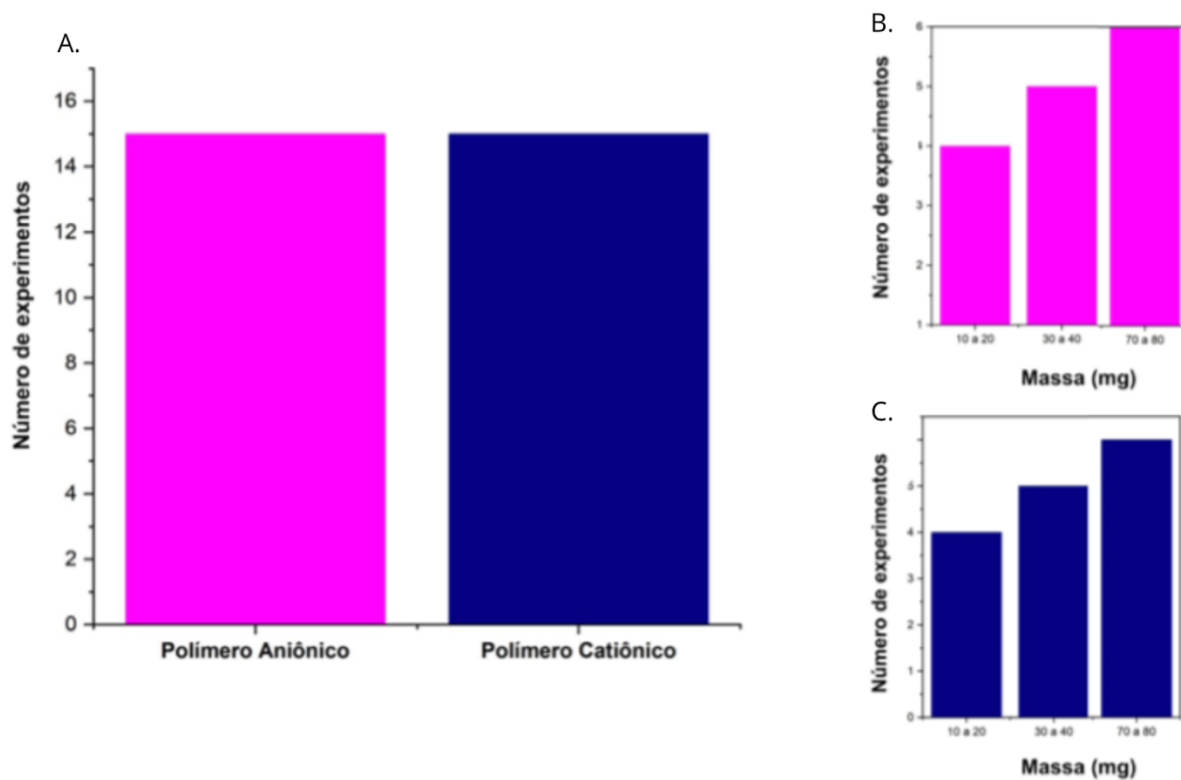


Figura A1. Quantidades de experimentos utilizando os polímeros (A) e as quantidades em massa de polímero aniônico (B) e catiônico (C) no bloco inicial de 30 formulações.

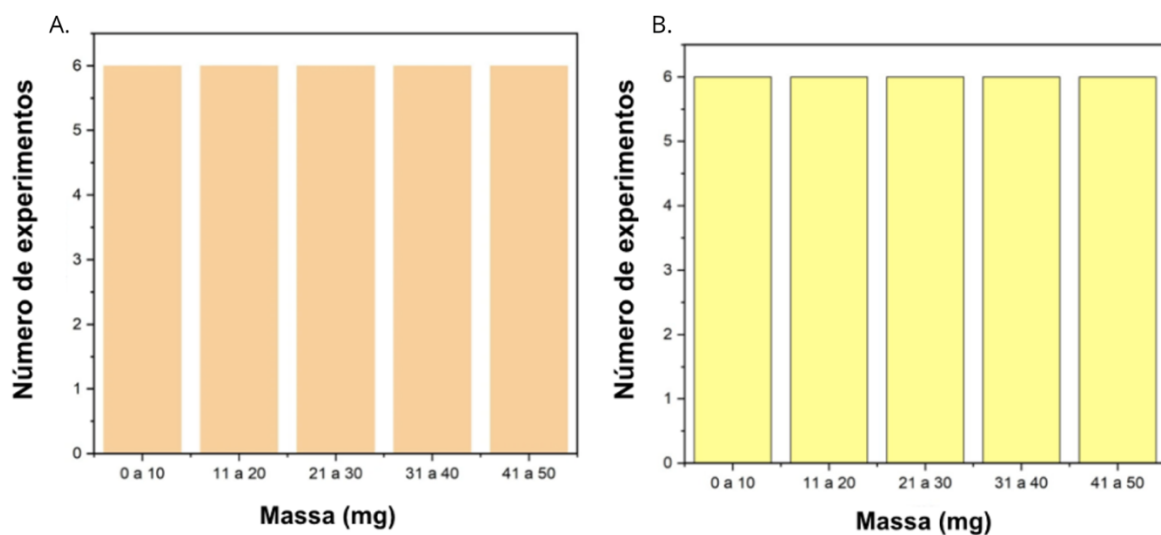


Figura A2. Quantidades em massa de Tween 80 (A) e PVA 40-88 (B) que foram utilizados no bloco inicial de 30 formulações.

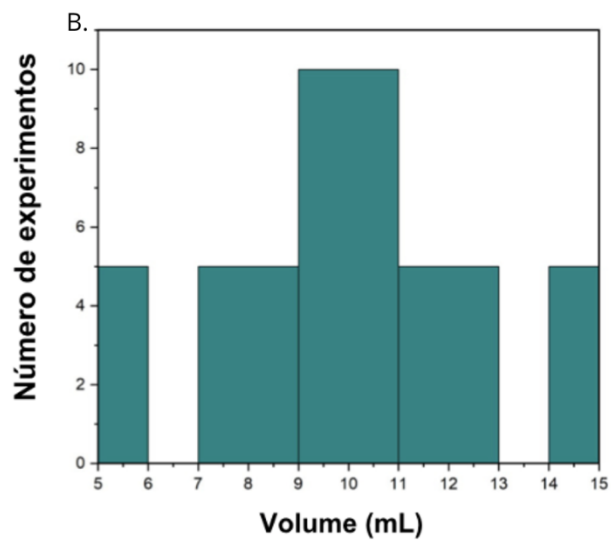
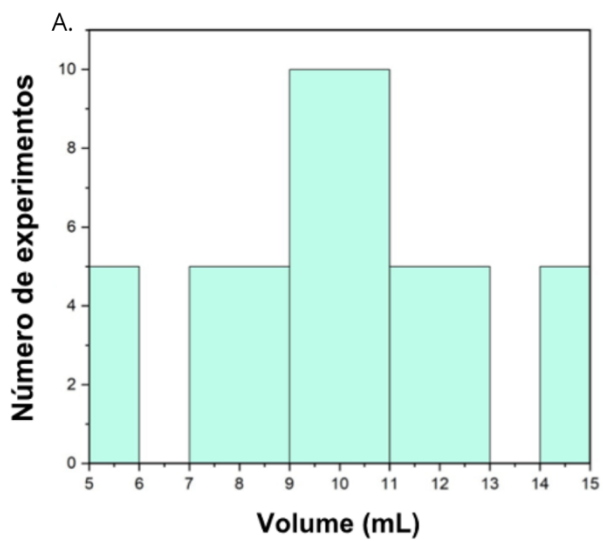


Figura A3. Quantidades em mililitros do volume da fase aquosa (A) e da fase orgânica (B) que foram utilizados no bloco inicial de 30 formulações.

APÊNDICE B- Tabela das formulações para nanopartículas com minoxidil simuladas pela rede neural artificial e produzidas.

Composição						Variáveis de produção		
Fase orgânica			Fase aquosa			Gotejamento da fase orgânica na fase aquosa	Agitação da fase aquosa	Temperatura
Eudragit L100	Eudragit E100	Metanol	PVA	Tween	Água			
83 mg	0 mg	11 mL	18 mg	32 mg	9 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
12 mg	0 mg	8 mL	19 mg	31 mg	12 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
85 mg	0 mg	5 mL	9 mg	41 mg	15 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
17 mg	0 mg	15 mL	50 mg	0 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
94 mg	0 mg	10 mL	21 mg	29 mg	10 mL	Verter	Magnética	25°C
0 mg	19 mg	15 mL	50 mg	0 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	59 mg	12 mL	39 mg	11 mg	8 mL	Bureta	Magnética	25°C
24 mg	0 mg	9 mL	36 mg	14 mg	11 mL	Bureta	Magnética	25°C
52 mg	0 mg	8 mL	33 mg	17 mg	12 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
20 mg	0 mg	7 mL	39 mg	11 mg	13 mL	Verter	Magnética	50°C
16 mg	0 mg	9 mL	4 mg	46 mg	11 mL	Bureta	Magnética	50°C
84 mg	0 mg	6 mL	1 mg	49 mg	14 mL	Verter	Magnética	25°C
48 mg	0 mg	8 mL	21 mg	29 mg	12 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	27 mg	9 mL	29 mg	21 mg	11 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	46 mg	10 mL	28 mg	22 mg	10 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
57 mg	0 mg	11 mL	14 mg	36 mg	9 mL	Verter	Magnética	50°C
84 mg	0 mg	12 mL	18 mg	32 mg	8 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C

0 mg	62 mg	12 mL	19 mg	31 mg	8 mL	Bureta	Magnética	25°C
20 mg	0 mg	14 mL	7 mg	43 mg	6 mL	Bureta	Magnética	50°C
66 mg	0 mg	13 mL	1 mg	49 mg	7 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
62 mg	0 mg	14 mL	3 mg	47 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
44 mg	0 mg	15 mL	1 mg	49 mg	5 mL	Verter	Magnética	50°C
41 mg	0 mg	13 mL	8 mg	42 mg	7 mL	Bureta	Magnética	25°C
78 mg	0 mg	13 mL	36 mg	14 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	31 mg	15 mL	26 mg	24 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	57 mg	14 mL	43 mg	7 mg	6 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	78 mg	14 mL	42 mg	8 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	97 mg	14 mL	41 mg	9 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	96 mg	15 mL	42 mg	8 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
82 mg	0 mg	12 mL	18 mg	32 mg	8 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
36 mg	0 mg	11 mL	24 mg	26 mg	9 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
13 mg	0 mg	12 mL	15 mg	35 mg	8 mL	Verter	Magnética	50°C
28 mg	0 mg	11 mL	25 mg	25 mg	9 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
42 mg	0 mg	12 mL	4 mg	46 mg	8 mL	Bureta	Magnética	50°C
11 mg	0 mg	13 mL	15 mg	35 mg	7 mL	Verter	Magnética	50°C
68 mg	0 mg	11 mL	4 mg	46 mg	9 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
19 mg	0 mg	13 mL	12 mg	38 mg	7 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
64 mg	0 mg	12 mL	23 mg	27 mg	8 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
60 mg	0 mg	12 mL	23 mg	27 mg	8 mL	Bureta	Magnética	25°C
100 mg	0 mg	13 mL	8 mg	42 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C

100 mg	0 mg	14 mL	2 mg	48 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
99 mg	0 mg	14 mL	4 mg	46 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
99 mg	0 mg	14 mL	2 mg	48 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
97 mg	0 mg	14 mL	2 mg	48 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
95 mg	0 mg	15 mL	1 mg	49 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
91 mg	0 mg	15 mL	0 mg	50 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
99 mg	0 mg	13 mL	10 mg	40 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
100 mg	0 mg	14 mL	9 mg	41 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
99 mg	0 mg	14 mL	9 mg	41 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
100 mg	0 mg	15 mL	10 mg	40 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
100 mg	0 mg	15 mL	9 mg	41 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
98 mg	0 mg	12 mL	5 mg	45 mg	8 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
97 mg	0 mg	12 mL	5 mg	45 mg	8 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
100 mg	0 mg	13 mL	4 mg	46 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
98 mg	0 mg	13 mL	4 mg	46 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
98 mg	0 mg	13 mL	5 mg	45 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
92 mg	0 mg	13 mL	4 mg	46 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
97 mg	0 mg	14 mL	6 mg	44 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
94 mg	0 mg	13 mL	0 mg	50 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
50 mg	0 mg	15 mL	5 mg	45 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
100 mg	0 mg	11 mL	0 mg	50 mg	9 mL	Bureta	Magnética	50°C
100 mg	0 mg	10 mL	0 mg	50 mg	10 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	13 mg	9 mL	19 mg	31 mg	11 mL	Verter	Magnética	25°C

0 mg	23 mg	5 mL	14 mg	36 mg	15 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	40 mg	10 mL	50 mg	0 mg	10 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	19 mg	11 mL	9 mg	41 mg	9 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	19 mg	15 mL	50 mg	0 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	59 mg	12 mL	39 mg	11 mg	8 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	57 mg	14 mL	43 mg	7 mg	6 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	40 mg	15 mL	35 mg	15 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	20 mg	15 mL	50 mg	0 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	35 mg	12 mL	4 mg	46 mg	8 mL	Verter	Magnética	50°C
0 mg	62 mg	13 mL	0 mg	50 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	13.8 mg	14.2 mL	9.7mg	40.3 mg	5.8 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	10 mg	14.5 mL	14.3 mg	35.7 mg	5.5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	12.5 mg	12.9 mL	14.5 mg	35.5 mg	7.1 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	12.6 mg	14.3 mL	10.4 mg	39.6 mg	5.7 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	15.1 mg	12.8 mL	13.6 mg	36.4 mg	7.2 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	11.4 mg	12.2 mL	18.5 mg	31.5 mg	7.8 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	16.6 mg	13.5 mL	11.7 mg	38.3 mg	6.5 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	11.7 mg	13.2 mL	15.8 mg	34.2mg	6.8 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	12.7 mg	14.1 mL	14.2 mg	35.8 mg	5.9 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	14.3 mg	13 mL	17.5 mg	32.5mg	7 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	11.3 mg	12.6 mL	18.8 mg	31.2 mg	7.4 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	16 mg	14.1 mL	11.8 mg	38.2 mg	5.9 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	13 mg	14.4 mL	12.6 mg	37.4 mg	5.6 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C

0 mg	16.2 mg	14.2 mL	12.6 mg	37.4 mg	5.8 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	14.3 mg	14.6 mL	14.9 mg	35.1 mg	5.4 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	16 mg	12.1 mL	18 mg	32 mg	7.9 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	15.3 mg	12.2 mL	19.4 mg	30.6 mg	7.8 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	16 mg	12.4 mL	18.1 mg	31.9 mg	7.6 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	11.7 mg	14 mL	8.7 mg	41.3 mg	6,0 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	13.6 mg	12.5 mL	13.4 mg	36.6 mg	7.5 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	14.6 mg	12,6 mL	18.1 mg	31,9 mg	7,4 mL	Verter	Magnética	25°C
0 mg	14,4 mg	12.7 mL	13.4 mg	36.6 mg	7.3 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	12.6 mg	12,7 mL	15.1 mg	34,9 mg	7,3 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	12.4 mg	12.8 mL	14.6 mg	35.4 mg	7.2 mL	Magnética	Bureta	50°C

APÊNDICE C- Tabela das formulações para nanopartículas com espironolactona simuladas pela rede neural artificial e produzidas.

Composição						Variáveis de produção		
Fase orgânica			Fase aquosa					
Eudragit L100	Eudragit E100	Metanol	PVA	Tween	Água	Gotejamento da fase orgânica na fase aquosa	Agitação da fase aquosa	Temperatura
0 mg	60 mg	15 mL	39 mg	11 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	69 mg	15 mL	32 mg	18 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	47 mg	15 mL	24 mg	26 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
88 mg	0 mg	15 mL	10 mg	40 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
80 mg	0 mg	15 mL	7 mg	43 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
85 mg	0 mg	15 mL	2 mg	48 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
100 mg	0 mg	15 mL	9 mg	41 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
36 mg	0 mg	15 mL	15 mg	35 mg	5 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	16 mg	15 mL	14 mg	36 mg	5 mL	Bureta	Magnética	25°C
41 mg	0 mg	15 mL	14 mg	36 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
69 mg	0 mg	15 mL	14 mg	36 mg	5 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	28 mg	15 mL	7 mg	43 mg	5 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	39 mg	15 mL	3 mg	47 mg	5 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	39 mg	15 mL	0 mg	50 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
91 mg	0 mg	13 mL	38 mg	12 mg	7 mL	Verter	Magnética	50°C
80 mg	0 mg	11 mL	39 mg	11 mg	9 mL	Verter	Magnética	50°C
99 mg	0 mg	10 mL	43 mg	7 mg	10 mL	Verter	Magnética	50°C

79 mg	0 mg	8 mL	37 mg	13 mg	12 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	95 mg	15 mL	35 mg	15 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
96 mg	0 mg	14 mL	7 mg	43 mg	6 mL	Verter	Magnética	50°C
23 mg	0 mg	15 mL	16 mg	34 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
78 mg	0 mg	14 mL	3 mg	47 mg	6 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	87 mg	15 mL	36 mg	14 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	86 mg	15 mL	25 mg	25 mg	5 mL	Bureta	Magnética	25°C
0 mg	69 mg	15 mL	12 mg	38 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
29 mg	0 mg	15 mL	38 mg	12 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	58 mg	15 mL	29 mg	21 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
89 mg	0 mg	13 mL	2 mg	48 mg	7 mL	Bureta	Magnética	50°C
0 mg	12 mg	15 mL	16 mg	34 mg	5 mL	Verter	Magnética	50°C
82 mg	0 mg	11 mL	9 mg	41 mg	9 mL	Verter	Magnética	50°C
0 mg	60 mg	15 mL	39 mg	11 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
65 mg	0 mg	6 mL	1 mg	49 mg	14 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	97 mg	5 mL	48 mg	2 mg	15 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	72 mg	10 mL	50 mg	0 mg	10 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
81 mg	0 mg	11 mL	16 mg	34 mg	9 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	12 mg	15 mL	50 mg	0 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
66 mg	0 mg	11 mL	23 mg	27 mg	9 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
82 mg	0 mg	10 mL	20 mg	30 mg	10 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
82 mg	0 mg	5 mL	15 mg	35 mg	15 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
61 mg	0 mg	9 mL	26 mg	24 mg	11 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C

62 mg	0 mg	8 mL	18 mg	32 mg	12 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
79 mg	0 mg	5 mL	4 mg	46 mg	15 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
89 mg	0 mg	10 mL	16 mg	34 mg	10 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
51 mg	0 mg	10 mL	25 mg	25 mg	10 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
77 mg	0 mg	11 mL	15 mg	35 mg	9 mL	Verter	Magnética	50°C
74 mg	0 mg	12 mL	16 mg	34 mg	8 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
99 mg	0 mg	15 mL	18 mg	32 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
98 mg	0 mg	15 mL	20 mg	30 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	30 mg	15 mL	26 mg	24 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	38 mg	15 mL	28 mg	22 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
11 mg	0 mg	15 mL	18 mg	32 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
80 mg	38 mg	15 mL	18 mg	32 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
20 mg	0 mg	14 mL	27 mg	23 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
58 mg	0 mg	14 mL	10 mg	40 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
68 mg	0 mg	15 mL	26 mg	24 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
10 mg	0 mg	15 mL	19 mg	31 mg	5 mL	Verter	Magnética	50°C
24 mg	0 mg	13 mL	18 mg	32 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
63 mg	0 mg	14 mL	16 mg	34 mg	6 mL	Bureta	Magnética	50°C
28 mg	0 mg	15 mL	21 mg	29 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
22 mg	0 mg	14 mL	23 mg	27 mg	6 mL	Verter	Magnética	50°C
30 mg	0 mg	15 mL	22 mg	28 mg	5 mL	Bureta	Magnética	50°C
92 mg	0 mg	10 mL	11 mg	39 mg	10 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
98 mg	0 mg	9 mL	16 mg	34 mg	11 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C

89 mg	0 mg	8 mL	10 mg	40 mg	12 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
100 mg	0 mg	10 mL	5 mg	45 mg	10 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
88 mg	0 mg	6 mL	5 mg	45 mg	14 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
79 mg	0 mg	11 mL	3 mg	47 mg	9 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	41 mg	15 mL	33 mg	17 mg	5 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
89 mg	0 mg	15 mL	35 mg	15 mg	7 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
73 mg	0 mg	13 mL	5 mg	45 mg	7 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	41 mg	15 mL	48 mg	2 mg	5 mL	Verter	Magnética	50°C
0 mg	30 mg	6 mL	24 mg	26 mg	14 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	30 mg	7 mL	22 mg	28 mg	13 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	75 mg	12 mL	50 mg	0 mg	8 mL	Verter	Magnética	50°C
0 mg	38 mg	15 mL	28 mg	22 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	80 mg	10 mL	35 mg	15 mg	10 mL	Verter	Magnética	50°C
0 mg	30 mg	6 mL	24 mg	26 mg	14 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	38 mg	15 mL	28 mg	22 mg	5 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	13.1 mg	14.6 mL	0.3 mg	49.7 mg	5.4 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	18,7 mg	14,8 mL	5,6 mg	44,4 mg	5,2 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	13,1 mg	14,9 mL	12,4mg	37,6 mg	5,1 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	12 mg	14,7 mL	9,1 mg	40,9 mg	5,3 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	21,1 mg	14.8 mL	1 mg	49 mg	5,2 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	14,5 mg	14,9 mL	0,9 mg	49,1 mg	5,1 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	17,3 mg	14,8 mL	3,3 mg	46,7 mg	5,2 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	19.2 mg	14,9 mL	11,5 mg	38,5 mg	5,1 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C

0 mg	15 mg	14.6 mL	13,4 mg	36,6 mg	5.4 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	24 mg	14,9 mL	2,8 mg	47,2 mg	5,1 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	24,1 mg	14,8 mL	1,8 mg	48,2 mg	5,2 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	15,3 mg	14,7 mL	13,1 mg	36,9 mg	5,3 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	11,5mg	14.8 mL	13 mg	37 mg	5.2 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	10,5 mg	14,7 mL	6,5 mg	43,5 mg	5,3 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	23,8 mg	14.8 mL	13,9 mg	36,1 mg	5.2 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	11,4 mg	14,6 mL	14,7 mg	35,3 mg	5,4 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	22,5 mg	14,6 mL	0,3 mg	49,7 mg	5,4 mL	Verter	Ultra Turrax	25°C
0 mg	21,3 mg	14,9 mL	11,3 mg	38,7 mg	5,1 mL	Bureta	Ultra Turrax	25°C
0 mg	41.1 mg	14.7 mL	44.5 mg	5.5 mg	5.3 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	41.5mg	14,9 mL	38.2mg	11.8 mg	5,1 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	39,1 mg	15 mL	35,4 mg	14,6 mg	5,0 mL	Verter	Ultra Turrax	50°C
0 mg	63,1 mg	14 mL	41,6 mg	8,4 mg	6 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C
0 mg	82.5 mg	14.3 mL	39.3 mg	10.7 mg	5.7 mL	Bureta	Ultra Turrax	50°C

APÊNDICE D– Distribuição das variáveis experimentais das formulações com minoxidil que resultaram em nanopartículas.

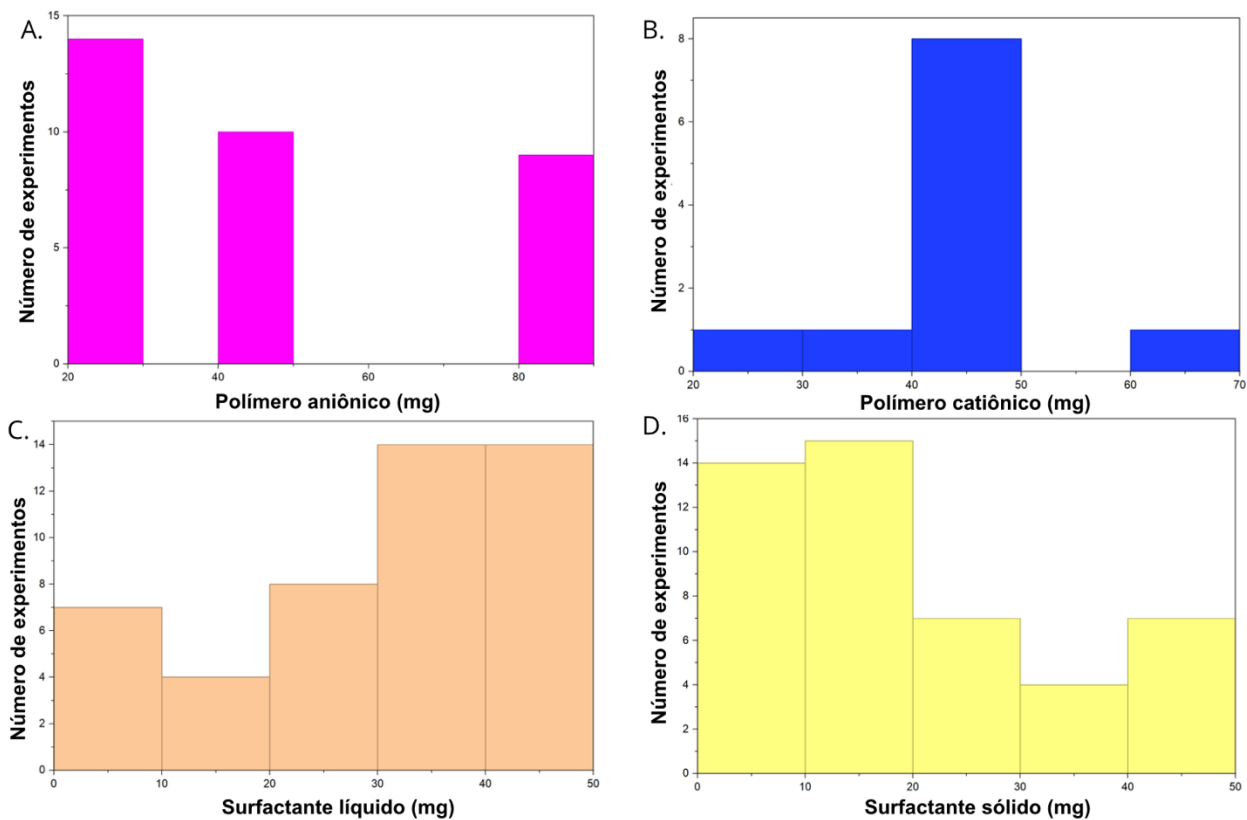


Figura D1. Distribuição das quantidades em miligramas (mg) de polímero aniônico (A), polímero catiônico (B), surfactante líquido (C) e surfactante sólido das 47 formulações com minoxidil (MXD) que resultaram em nanopartículas.

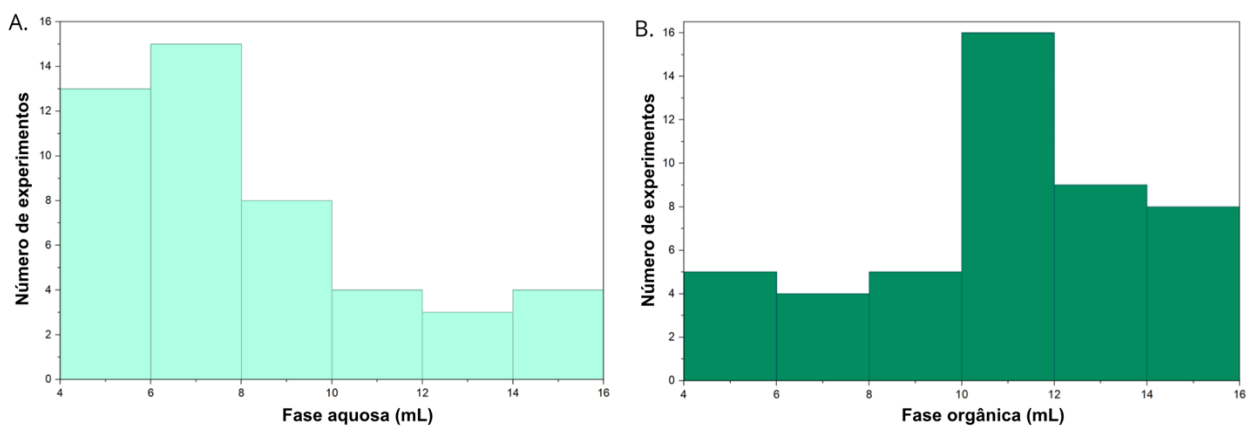


Figura D2. Distribuição das quantidades em mililitros (mL) da fase aquosa (A) e da fase orgânica (B) das 47 formulações com minoxidil (MXD) que resultaram em nanopartículas.

APÊNDICE E– Distribuição das variáveis experimentais das formulações com espironolactona que resultaram em nanopartículas.

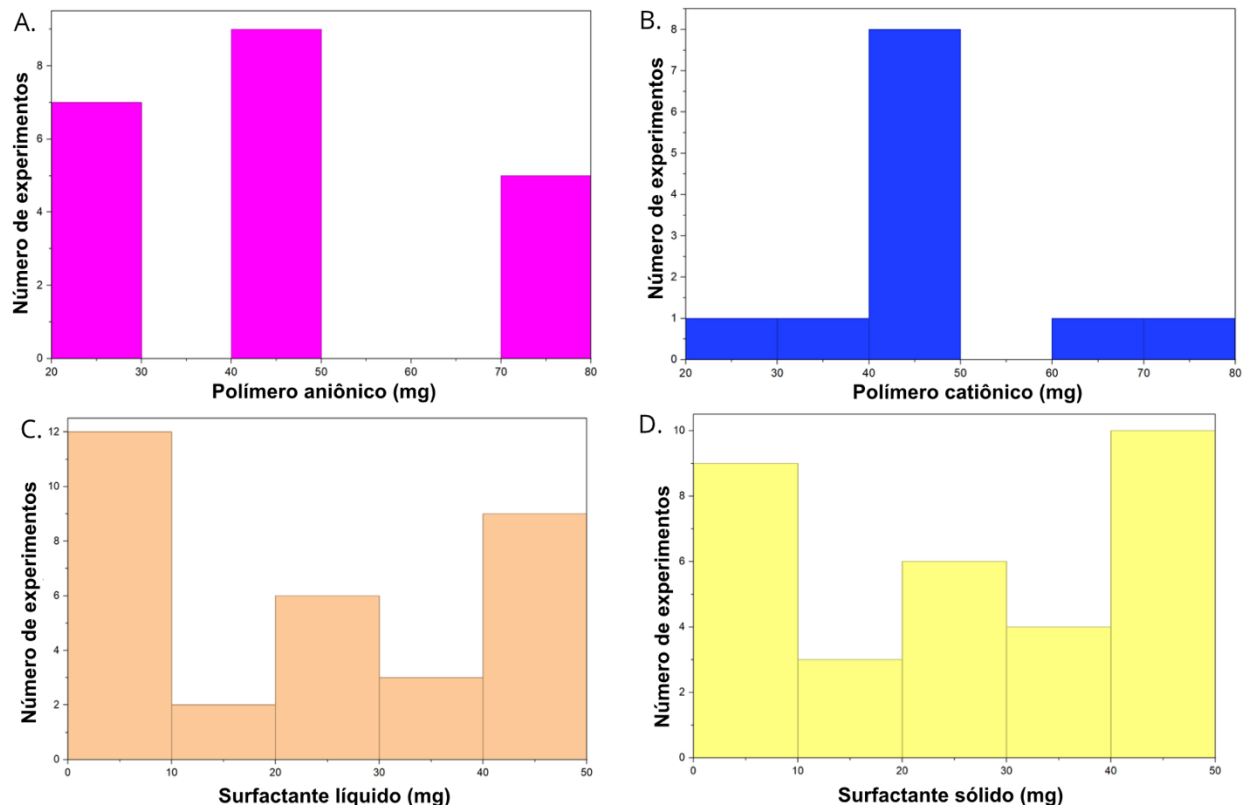


Figura E1. Distribuição das quantidades em miligramas (mg) de polímero aniônico (A), polímero catiônico (B), surfactante líquido (C) e surfactante sólido das 32 formulações com espironolactona (SPL) que resultaram em nanopartículas.

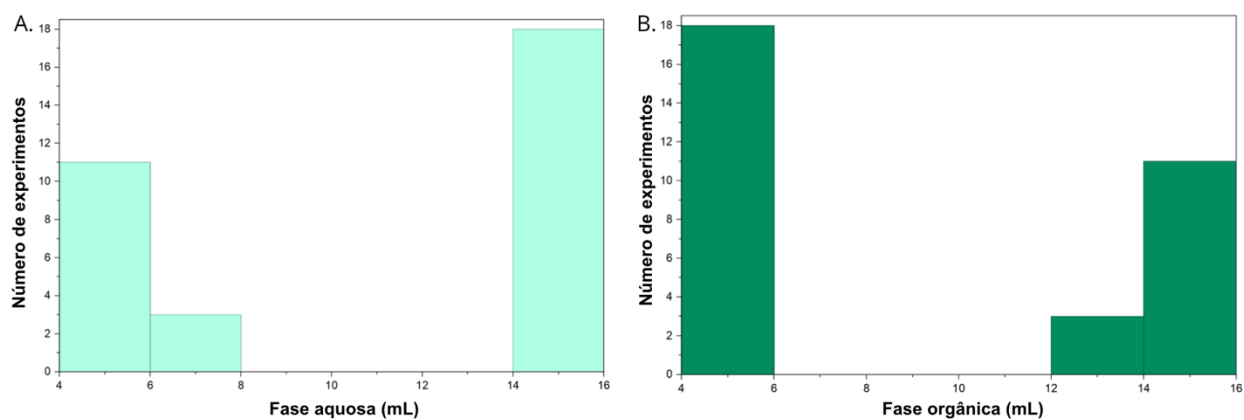


Figura E2. Distribuição das quantidades em mililitros (mL) da fase aquosa (A) e da fase orgânica (B) das 32 formulações com espironolactona (SPL) que resultaram em nanopartículas.