



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GUILHERME CARNEIRO LEAL

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA
CLÍNICA DE EMULSÃO BASE CONTENDO
INGREDIENTES NATURAIS PARA USO TÓPICO EM
PREPARAÇÕES MAGISTRAIS**

Londrina
2020

GUILHERME CARNEIRO LEAL

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICA
DE EMULSÃO BASE CONTENDO INGREDIENTES
NATURAIS PARA USO TÓPICO EM PREPARAÇÕES
MAGISTRAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Audrey Alesandra Stingham Garcia Lonni.

Londrina
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Carneiro Leal, Guilherme.

Desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de emulsão base contendo ingredientes naturais para uso tópico em preparações magistrais. / Guilherme Carneiro Leal. - Londrina, 2020.
110 f. : il.

Orientador: Audrey Alesandra Stingham Garcia Lonni Lonni.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2020.

Inclui bibliografia.

1. Cosméticos - Tese. 2. Emulsões - Tese. 3. Técnicas biofísicas - Tese. 4. Ingredientes naturais - Tese. I. Lonni, Audrey Alesandra Stingham Garcia Lonni. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. III. Título.

CDU 61

GUILHERME CARNEIRO LEAL

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICA
DE EMULSÃO BASE CONTENDO INGREDIENTES
NATURAIS PARA USO TÓPICO EM PREPARAÇÕES
MAGISTRAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Audrey Alesandra
Stinghen Garcia Lonni
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Sandra Regina Georgetti
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Mirela Fulgencio Rabito
Universidade Estadual de Londrina -UEL

Londrina, 21 de julho de 2020.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni pelo acolhimento, amizade, confiança, orientação, incentivo, paciência e sobretudo aos momentos especiais ao longo de todos esses anos.

Aos meus pais, Alex Carneiro Leal e Joana Carneiro Leal, por todo carinho, amor, incentivo e paciência durante toda a minha vida. Ao meu irmão Humberto, pelo companheirismo e amizade de sempre.

À Universidade Estadual de Londrina e aos professores que tanto contribuíram para a minha formação.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica da Universidade Estadual de Londrina, a todos os funcionários da Seção de Pós-Graduação no Centro de Ciências da Saúde (CCS/UEL).

À Universidade Estadual de Maringá, docentes, discentes e servidores, pela oportunidade e apoio neste trabalho. Em especial aos professores Dr. Marcos Luciano Bruschi, Dr. Celso Vataru Nakamura e Dr. João Carlos Palazzo de Mello pela disposição em me ajudar e por disponibilizarem seus laboratórios para a realização de grande parte deste estudo.

À Karine Campos Nunes pela ajuda e colaboração na realização do teste de eficácia clínica.

À Jessica Bassi pela disposição, amizade e suporte para a execução das análises reológicas.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho.

*“It is only through labor and painful effort, by
grim energy and resolute courage, that we
move on to better things.”*

Theodore Roosevelt

LEAL, Guilherme Carneiro. **Desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de emulsão base contendo ingredientes naturais para uso tópico em preparações magistrais**. 2020. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

RESUMO

Produtos para os cuidados da pele contendo ingredientes naturais e de origem sustentável, tem apresentado um notável crescimento no mercado farmacêutico e cosmético. Essa demanda também tem sido direcionada para o setor magistral, que atua na preparação de fórmulas individualizadas. No entanto, bases emulsivas contendo ingredientes naturais para uso como veículo tópico em formulações dermatológicas ou cosméticas ainda carece no mercado magistral. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar a estabilidade e a eficácia clínica de emulsões bases estabilizadas por diferentes tipos de emulsionantes naturais para fornecer um veículo pronto para uso em preparações magistrais. Para tal, foram desenvolvidas emulsões óleo em água (O/A) alterando o tipo da base autoemulsionante não-iônica com adição ou não de um coemulsionante aniônico. Posteriormente, foi realizada a caracterização das formulações por meio de testes preliminares de estabilidade, aspectos reológicos e estudo de estabilidade acelerada. A formulação (FB1) elaborada com a cera autoemulsionante não-iônica Olivem® 1000 (*Cetearyl Oliviate, Sorbitan Oliviate*) em associação do coemulsionante aniônico Eemulgin® SG (*Sodium Stearoyl Glutamate*) apresentou o melhor perfil de estabilidade e foi selecionado para realização do teste de eficácia do sistema conservante e posterior avaliação *in vivo* da eficácia clínica. Por fim, foi realizado o estudo de eficácia clínica a curto prazo com a formulação FB1. Neste estudo foram analisados parâmetros de hidratação e perda transepidermica de água (TEWL) do estrato córneo por técnicas de bioengenharia cutânea comparando com uma formulação (PW), que se trata de um veículo emulsivo convencional contendo cera autoemulsionante Polawax® NF (*Emulsifying Wax NF*). Após 28 dias de aplicação das formulações FB1 e PW foi observado o aumento de hidratação do estrato córneo em relação a área não tratada. Em síntese, o presente estudo demonstrou que a escolha do sistema emulsionante, assim como a técnica de preparo, é de grande importância na elaboração de emulsões estáveis e mostrou que a formulação FB1 apresentou potencial para uso como veículo natural e sustentável de uso tópico em preparações magistrais.

Palavras-chave: veículo; emulsões; cosméticos; técnicas biofísicas; ingredientes naturais.

LEAL, Guilherme Carneiro. **Development and clinical efficacy evaluation of an emulsion base containing natural ingredients for topical compounded preparations**. 2020. 110 f. Dissertation (Master's in Pharmaceutical Sciences) – Londrina State University, Londrina, 2020.

ABSTRACT

Skin care products containing natural ingredients and of sustainable origin has shown a remarkable growth in the pharmaceutical and cosmetic market. This demand has also been directed to compounding pharmacy market, which operates in the preparation of personalized formulations. However, the compounding market still lacks natural ingredients-based emulsion for use as topical vehicle in pharmaceutical and cosmetic preparations. In this context, the present work aimed to develop and evaluate the stability and clinical effectiveness of natural emulsifier-based emulsions to provide a standardized vehicle base for topical compounded preparations. Thus, oil in water (O/W) emulsions were developed, changing the type of the nonionic self-emulsifying wax with or without the addition of an anionic co-emulsifier. Subsequently, the characterization of the formulations was carried out through preliminary stability tests, rheological aspects and accelerated stability study. The formulation (FB1) made with non-ionic self-emulsifying wax Olivem[®] 1000 (Cetearyl Oliviate, Sorbitan Oliviate) in association with the anionic co-emulsifier Emulgin[®] SG (Sodium Stearoyl Glutamate), shown the best stability profile and was selected for preservative efficacy evaluation and *in vivo* assessment of clinical efficacy test. Finally, a short-term clinical efficacy study was conducted with FB1 formulation. In this study, hydration and, transepidermal water loss (TEWL) of the stratum corneum were analyzed by skin bioengineering techniques comparing with a formulation (PW), that it is a conventional emulsifying vehicle containing self-emulsifying wax Polawax[®] NF (Emulsifying Wax NF). The formulations FB1 and PW were applied for 28 days and an increase in the hydration of the stratum corneum was observed in relation to the untreated area. In summary, the present study demonstrates the importance of the emulsifying system and preparation technique in the formulation of stable emulsions, and that FB1 formulation shows potential use as a natural and sustainable topical vehicle in compounded pharmacy preparations.

Key-words: vehicle; emulsions; cosmetics; biophysical techniques; natural ingredients.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	A pele e seus anexos.	20
Figura 2 -	A nomenclatura farmacopeica usada para classificar formulações tópicas.	30
Figura 3 -	Nomenclatura farmacêutica combinada com a matriz estrutural e da sua indicação.	31
Figura 4 -	Principais tipos de emulsões.	33
Figura 5 -	Representação esquemática dos mecanismos que levam a coalescência de uma emulsão O/A.	36
Figura 6 -	Evolução das alegações “naturais e ecológicas” no lançamento global de novos produtos para cuidados com a pele.	39
Figura 7 -	O sistema Multi Probe Adapter (MPA) (Courage & Khazaka, Alemanha).....	42
Figura 8 -	Ilustração do princípio de medição do Corneometer® CM 825 e foto da cabeça da sonda.	43
Figura 9 -	Ilustração do princípio de medição da TEWL utilizando o Tewameter® TM 300.....	45
Figura 10 -	Sonda para determinação do sebo cutâneo (Sebumeter®).	47
Figura 11 -	Emulsões FB1, FB2, FB3 e FB5.	66
Figura 12 -	Reogramas de fluxo da formulação FB1 representados como tensão de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.	70
Figura 13 -	Reograma de fluxo da formulação FB2 representadas como tensão de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.	71
Figura 14 -	Reograma de fluxo da formulação FB3 representadas como tensão de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.	71
Figura 15 -	Reograma de fluxo da formulação FB5 representada como viscosidade em função do gradiente de cisalhamento nas	

	temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.....	72
Figura 16	- Reograma de fluxo da formulação FB5 representadas como tensão de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.....	72
Figura 17	- Reograma de fluxo da formulação FB2 representada como viscosidade em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.....	73
Figura 18	- Reograma de fluxo da formulação FB3 representada como viscosidade em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.....	73
Figura 19	- Reograma de fluxo da formulação FB5 representada como viscosidade em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.....	74
Figura 20	- Micrografias das emulsões: a) FB1, b) FB2, c) FB3 e d) FB5. Ampliação de 400X.	78
Figura 21	- Distribuição de tamanho das partículas da formulação FB1: (■) histograma dos intervalos de classe e (—●—) representação da distribuição cumulativa dos tamanhos de partícula.	79
Figura 22	- Distribuição de tamanho das partículas da formulação FB2: (■) histograma dos intervalos de classe e (—●—) representação da distribuição cumulativa dos tamanhos de partícula.	79
Figura 23	- Distribuição de tamanho das partículas da formulação FB3: (■) histograma dos intervalos de classe e (—●—) representação da distribuição cumulativa dos tamanhos de partículas.	80
Figura 24	- Distribuição de tamanho das partículas da formulação FB5: (■) histograma dos intervalos de classe e (—●—) representação da distribuição cumulativa dos tamanhos de partículas.	80
Figura 25	- Conteúdo aquoso do estrato córneo dos antebraços das voluntárias por meio do Corneometer® no tempo 0 e após 28	

dias de aplicação das formulações estudadas. FB1 (formulação do estudo), PW (veículo convencional) e Cntrl (controle – nenhum tratamento)..... 90

Figura 26 - Perda de água transepidérmica (TEWL) dos antebraços das voluntárias por meio do Corneometer® no tempo 0 e após 28 dias de aplicação das formulações estudadas. FB1 (formulação do estudo), PW (veículo convencional) e Cntrl (controle – nenhum tratamento)..... 91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de hidratação cutânea e interpretação da condição da pele resultantes da corneometria (Corneometer® CM 825) expressos em unidades arbitrárias (UA).	44
Tabela 2 - Valores da perda transepidérmica de água em valores g/m ² .h e interpretação da condição da pele.	45
Tabela 3 – Descritivo das matérias-primas utilizadas nas formulações com a denominação comercial, química, INCI, função, fornecedor e fase de adição, sendo A) aquosa, B) oleosa e C e D) complementar das emulsões.....	51
Tabela 4 - Composição das nove formulações preliminares (FB1 a FB9) em percentual (%; p/p), sendo PW a formulação controle.	52
Tabela 5 - Microrganismos utilizados no Teste desafio do sistema conservante (<i>Challenge Test</i>) (FARMACOPEIA, 2019).	60
Tabela 6 - Características organolépticas (aspecto, cor e odor) das formulações após 48 horas de preparo.	67
Tabela 7 - Avaliação Preliminar da Estabilidade (Teste de centrifugação e de estresse térmico).....	68
Tabela 8 - Resultados do índice de consistência (k), índice de fluxo (n), tensão de cedência (τ_0) e área de histerese (Pa/s) nas temperaturas 25 e 37 °C para as formulações FB1,FB2, FB3 e FB5.....	75
Tabela 9 - Valores de viscosidade aparente mínimadas formulações na temperatura de 25° C (média de 3 replicadas). Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% - (one-way ANOVA, $p < 0,05$).....	76
Tabela 10 - Teste de Estabilidade Acelerada da formulação FB1: determinação das propriedades organolépticas, valor de pH e variação do tamanho das partículas. Fonte: o próprio autor.	82
Tabela 11 - Teste de Estabilidade Acelerada da formulação FB2: determinação das propriedades organolépticas, valor de pH e variação do tamanho das partículas. Fonte: o próprio autor.	83

- Tabela 12** - Teste de Estabilidade Acelerada da formulação FB3: determinação das propriedades organolépticas, valor de pH e variação do tamanho das partículas. Fonte: o próprio autor. 83
- Tabela 13** - Teste de Estabilidade Acelerada da formulação FB5: determinação das propriedades organolépticas, valor de pH e variação do tamanho das partículas. Fonte: o próprio autor. 84
- Tabela 14** - Contagem do número de micro-organismos viáveis em função do tempo de realização do experimento na formulação FB1. 88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/O	Água em óleo
A/O/A	Água em óleo em água
ANFARMAG	Associação Nacional dos Farmacêuticos Magistrais
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CTRL	Controle negativo
DP	Desvio padrão
EC	Estrato córneo
EHL	equilíbrio hidrófilo-lipófilo
FB1	Formulação base 1
FB2	Formulação base 2
FB3	Formulação base 3
FB5	Formulação base 5
g	grama
INCI	<i>International Nomenclature of Cosmetic Ingredients</i>
η	índice de fluxo
k	índice de consistência
m	massa
m ²	Metro quadrado
min	minuto
mg	miligrama
mL	mililitro

O/A	Óleo em água
O/A/O	Óleo em água em óleo
p/p	peso peso
p/v	peso volume
Pa	Pascal
pH	Potencial hidrogeniônico
p	significância do teste estatístico
PW	Formulação base convencional Polawax®
SAB	Sabourad dextrose agar
TEA	Teste de estabilidade acelerada
TEM	Teste de estabilidade normal
TEWL	<i>Transepidermical water loss</i>
TSA	Trypitic soy agar
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UEM	Universidade Estadual de Maringá
UFC	Unidade formadora de colônias
UV	Ultra violeta
μL	microlitro
®	Marca registrada
%	Por cento
°C	Graus Celcius
σ	Tensão de cisalhamento
γ	Gradiente de cisalhamento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	PELE: ESTRUTURA E FUNÇÃO	20
2.2	FARMÁCIA MAGISTRAL	24
2.3	VEÍCULOS DERMATOLÓGICOS E COSMÉTICOS	28
2.4	EMULSÕES	32
2.4.1	Estabilidade de Emulsões	35
2.5	VEGETALIZAÇÃO DOS COSMÉTICOS.....	38
2.6	BIOENGENHARIA CUTÂNEA	40
3	OBJETIVOS	50
3.1	OBJETIVOS GERAIS.....	50
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	50
4	MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1	MATERIAIS	51
4.1.1	Matérias-Primas	51
4.1.2	Equipamentos e Acessórios.....	53
4.2	MÉTODOS	53
4.2.1	Desenvolvimento das Formulações	53
4.2.2	Testes Preliminares de Estabilidade	54
4.2.2.1	Avaliação das características organolépticas.....	54
4.2.2.2	Teste de centrifugação.....	55
4.2.2.3	Teste de estresse térmico por ciclo de congelamento e descongelamento	55
4.2.3	Caracterização das Formulações.....	56
4.2.3.1	Determinação do tipo de emulsão.....	56
4.2.3.2	Análise reológica de fluxo contínuo.....	56
4.2.3.3	Análise granulométrica.....	57
4.2.4	Testes de Estabilidade Acelerada (TEA).....	58
4.2.4.1	Análise macroscópica	58
4.2.4.2	Determinação do pH	58

4.2.4.3	Análise do tamanho médio de partícula	59
4.2.5	Teste Desafio do Sistema Conservante (<i>Challenge Test</i>).....	59
4.2.6	Avaliação dos efeitos das formulações na pele humana por bioengenharia cutânea	61
4.2.6.1	Triagem das voluntárias	61
4.2.6.2	Crítérios de inclusão e exclusão.....	62
4.2.6.3	Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo.....	63
4.2.6.4	Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL)	63
4.2.6.5	Avaliação dos efeitos das formulações a curto prazo	63
4.2.7	Análise Estatística	64
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1	DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES	65
5.2	TESTES PRELIMINARES DE ESTABILIDADE	66
5.2.1	Avaliação das Características Organolépticas	66
5.2.2	Teste de centrifugação.....	67
5.2.3	Teste de Estresse Térmico por Ciclo de Congelamento e Descongelamento	68
5.3	CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES	69
5.3.1	Determinação do tipo de emulsão.....	69
5.3.2	Análise reológica de fluxo contínuo.....	69
5.3.3	Análise granulométrica.....	77
5.4	TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA	82
5.4.1	Análise Macroscópica	85
5.4.2	Determinação do pH	86
5.4.3	Análise da variação do tamanho médio de partícula.....	86
5.5	TESTE DESAFIO DO SISTEMA CONSERVANTE (“ <i>CHALLENGE TEST</i> ”)	86
5.6	AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS FORMULAÇÕES NA PELE HUMANA POR BIOENGENHARIA CUTÂNEA	89
5.6.1	Avaliação dos efeitos das formulações a curto prazo.	89
5.6.2	Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo.....	89
5.6.3	Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL)	90
6	CONCLUSÃO	93

REFERÊNCIAS	94
ANEXOS	103
ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	104
ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	108

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da história o uso de medicamentos tem sido parte integrante da farmácia e da prática médica na prevenção e gerenciamento da saúde. No último século a indústria farmacêutica ajudou a tornar a prática médica mais consistente, facilitando o acesso ao medicamento e promovendo consideravelmente o desenvolvimento da terapia farmacológica. Mas nos últimos anos ficou claro que, embora os produtos da indústria farmacêutica tenham atingido quase todas áreas terapêuticas, não foram suficientes em resolver os tratamentos à um nível individual em relação a dosagem, forma farmacêutica e veículo, ou muitas vezes não são adequados ao quadro clínico de um paciente específico (SÁNCHEZ-REGAÑA *et al.*, 2013). E assim, a preparação magistral é uma preparação personalizada, que mostra o seu valor na medicina moderna, como forma de complementar ou otimizar o tratamento farmacológico (SÁNCHEZ-REGAÑA *et al.*, 2013).

Há uma demanda crescente por preparações magistrais de uso tópico na dermatologia para uso farmacêutico e cosmético. A personalização da terapia oferece os meios para adaptar melhor o tratamento às necessidades individuais, com a possibilidade de ajuste da dosagem, associações de ingredientes ativos, escolha de excipientes e veículo ideal.

As preparações tópicas consistem principalmente de um ou mais ingredientes ativos e um veículo ou base galênica, no qual é incorporado. Esses produtos são de fácil aplicação e convenientes em termos de aceitabilidade pelo paciente ou consumidor e são utilizados na dermatologia tanto para o tratamento de doenças como para manter a pele saudável (CHANG *et al.*, 2013). Essas preparações existem em muitas formas, tais como pomadas, géis, cremes, loções, soluções, entre outras, e são classificadas de maneira geral pela sua natureza físico-química, como pós, líquidos ou semissólidos (SURBER; SMITH, 2005).

Emulsão semissólida é o veículo mais utilizado para veicular ingredientes cosméticos e farmacêuticos para aplicação tópica (EPSTEIN, 2009). As emulsões são misturas de dois líquidos não miscíveis que são estabilizados contra a separação de suas fases. Essas misturas são termodinamicamente instáveis e precisam de um agente emulsionante para permanecerem estáveis. Existem diferentes tipos de emulsões, como por exemplo: água em óleo (A/O), óleo em água

(O/A), óleo em silicone (A/Si), emulsões múltiplas (A/O/A) etc. O tipo de emulsão mais popular utilizado em produtos para os cuidados da pele são as emulsões óleo-em-água (O/A) (DRAELOS, 2016).

Ao desenvolver uma base galênica de uso tópico, cada um de seus componentes precisa ser selecionado corretamente de forma a cumprir uma série de exigências. Além de ser farmacologicamente inerte, ele precisa ser estável quimicamente, atóxico, não irritante, não alergênico, cosmeticamente aceitável, de fácil aplicação e deve liberar facilmente os ingredientes ativos, de forma a garantir sua correta absorção (SURBER; SMITH, 2005).

Para satisfazer os critérios acima é essencial a realização de testes para avaliar a qualidade da emulsão produzida, como a distribuição do tamanho das micelas, estabilidade física e mecânica a longo prazo (teste de centrifugação, estresse induzido por variação de temperatura e reologia), microbiológica (teste-desafio) e a sua interação com a pele (teste de citotoxicidade e bioengenharia cutânea) (TADROS, 2004).

Ao longo da última década tem havido uma crescente conscientização dos consumidores em relação aos ingredientes de produtos para o cuidado da pele que eles utilizam. Os produtos cosméticos contendo ingredientes de fontes naturais descritas como "natural", "orgânico" ou "vegetal" vêm ganhando a atenção dos consumidores (PATRAVALE; MANDAWGADE, 2008; AMBERG; FOGARASSY, 2019). Eles transmitem a impressão de terem melhor segurança, compatibilidade com a pele e causar menos impacto ao ambiente (RIBEIRO *et al.*, 2015).

Muitos produtos cosméticos são caracterizados como "natural" ou "orgânico". Os cosméticos orgânicos e naturais apresentam, de maneira geral, semelhança qualitativa nas formulações, porém são quantitativamente diferentes. É proibido o uso de matérias-primas sintéticas ou semissintéticas nas formulações, salvo algumas exceções. Esses cosméticos precisam conter matérias-primas derivadas de produtos naturais com processos validados e matérias-primas de origem orgânica (FONSECA-SANTOS; CORREA; CHORILLI, 2015).

No contexto da dermatologia e da cosmetologia os métodos biofísicos (bioengenharia) de análise cutânea compreendem a utilização de diversos instrumentos que utilizam diferentes métodos de medição. De maneira não invasiva são avaliadas as características físico-químicas da pele e o comportamento de um

produto cosmético em suas reais condições de uso. Os métodos biofísicos mais citados nos periódicos científicos são para avaliar a hidratação cutânea, a perda transepidermica de água, o pH cutâneo, o conteúdo lipídico da pele, as propriedades mecânicas da pele e a coloração da pele (GONÇALVES; CAMPOS, 2009).

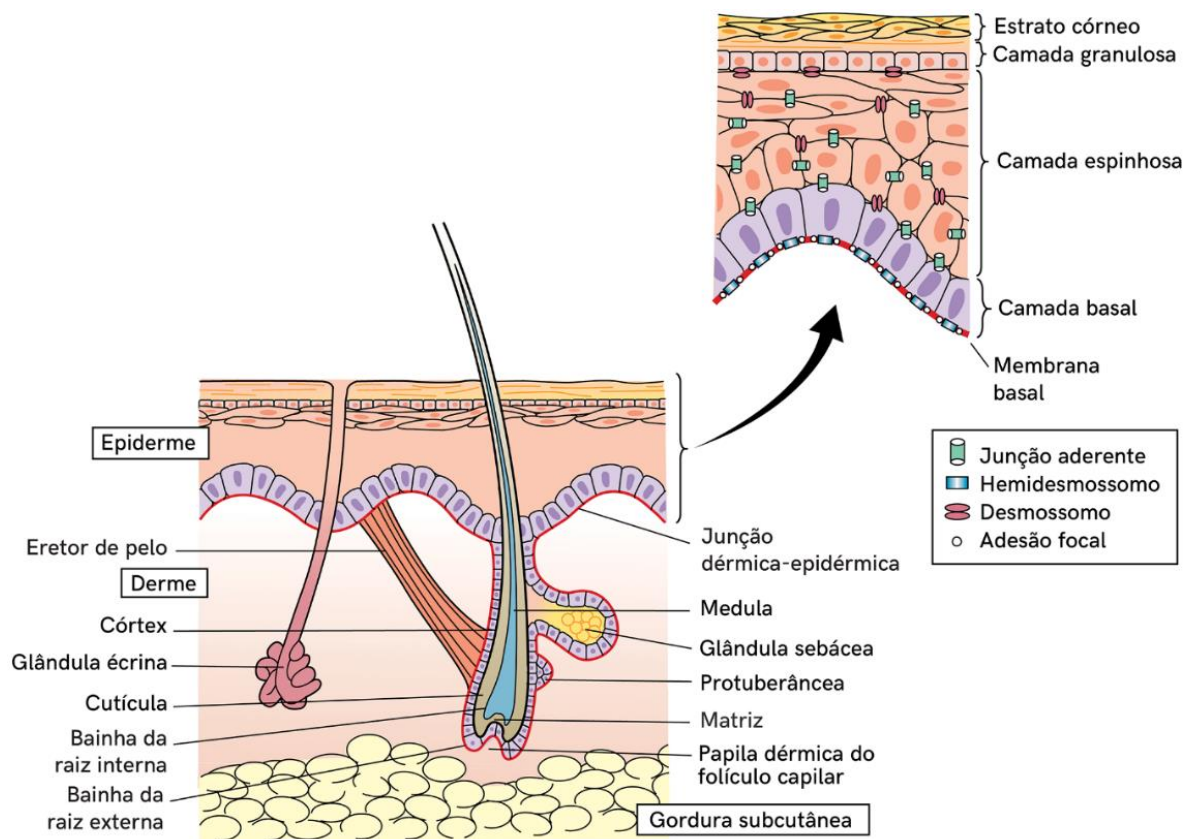
Para tornar as práticas de medições mais objetivas e confiáveis, encontram-se publicadas diretrizes (*guidelines*) que definem as condições técnicas e metodológicas que precisam ser levadas em consideração na hora de realizar os ensaios que utilizam métodos biofísico para análise da pele (PLESSIS *et al.*, 2013). Assim, o desenvolvimento de produtos tecnológicos de origem sustentável apresenta-se como uma estratégia vantajosa para as empresas de cosméticos e uma opção segura para prescritores e consumidores que buscam esse tipo de consumo. Dada a sua importância, e diante da carência desse tipo de produto para o mercado magistral, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar formulações tópicas, para uso cosmético e farmacêutico, contendo ingredientes naturais para prescrição magistral. Portanto, buscou-se contribuir com o tratamento farmacêutico e cosmético individualizado oferecendo uma alternativa aos veículos convencionais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PELE: ESTRUTURA E FUNÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano e cobre toda a superfície externa do corpo. Possui uma superfície de aproximadamente 2 m², compreendendo em média 16% da massa corporal total de uma pessoa. A pele tem como principal função fornecer uma barreira protetora do ambiente externo, protegendo de microrganismos, agentes químicos, radiação ultravioleta (UV), alérgenos. Também desempenha função termorreguladora e regula a quantidade de água que é liberada para o ambiente. Conforme ilustrada na Figura 1 a pele é composta por três camadas, epiderme, derme e hipoderme, cada uma apresentando diferenças significativas em sua anatomia e função.

Figura 1 - A pele e seus anexos.



Fonte: adaptado de Mcgrath, 2016

A epiderme é a camada mais externa da pele. Consiste em regiões multicamadas denominadas: camada basal (fonte de renovação celular), estrato espinhoso (região central da epiderme onde é produzida a queratina pelos queratinócitos), estrato granuloso (local de barreira contra perda da água) e estrato córneo (camada externa mais espessa e queratinizada da epiderme). O conteúdo celular da epiderme é constituído predominantemente por queratinócitos (aproximadamente 95% das células), juntamente de células epidérmicas como, melanócitos, células de Langerhans e células Merkel. Os melanócitos (encontrados na camada basal) são células especializadas da crista neural que produzem melanina, um pigmento que protege a pele de radiações UV absorvendo-as e dissipando-as na forma de energia térmica inofensiva. As células de Langerhans são responsáveis pela apresentação do antígeno, fazendo parte do sistema imunológico da pele. As células de Merkel localizadas na camada basal, são responsáveis pela função mecanossensorial em resposta ao toque (ARIFFIN; HASHAM, 2020).

O estrato córneo (EC) é composto por células denominadas corneócitos, que fornece suporte estrutural e atua como uma barreira protetora, além de ser reservatório hídrico para manutenção de processos enzimáticos fisiológicos. A propriedade de barreira do estrato córneo é devida aos seus componentes lipídicos e aos corneócitos, que são preenchidos com filamentos de queratina e filagrina. Os corneócitos são incorporados dentro de uma densa matriz lipídica, composta principalmente por ceramidas, colesterol e ácidos graxos livres produzidos pelos corpos lamelares ou de Odland, localizados nos queratinócitos das camadas espinhosa e granular (BOSKO, 2019).

O EC também possui diversas outras funções biológicas além da função de barreira e manutenção da hídrica. Estudos recentes mostram que o EC fornece suporte ao sistema antioxidante inato, produz peptídeos antimicrobianos, gera resposta imune à entrada de hospedeiros e mantém uma relação simbiótica com sua microflora (PRESCOTT, *et al.*, 2017). A diversidade de micróbios que o EC abriga fornece uma barreira adicional à colonização de patógenos. Tem sido demonstrado que a microflora é parte integral da imunidade da pele, desempenhando papel na maturação e regulação homeostática dos queratinócitos, com implicações sistêmicas (BOSKO, 2019). Ademais, o pH levemente ácido do EC forma um manto ácido que

impede a colonização de microrganismos patogênicos, como *Staphylococcus aureus*, contribuindo para a manutenção da flora natural da pele (JANSEN VAN RENSBURG; FRANKEN; DU PLESSIS, 2019).

O pH fisiológico do EC é relatado na literatura numa ampla faixa, variando de 4,0 a 7,0, podendo seu valor diferir entre diferentes regiões do corpo, gênero, idade e grupo étnico (LAMBERS, *et al.*, 2006). Ainda que a origem desse pH superficial não esteja totalmente elucidada, diversos mecanismos (endógenos e exógenos) contribuem para sua formação: conteúdo de ácidos graxo livres, lipídios sebáceos, metabólitos microbianos, ácido láctico gerado naturalmente pelas glândulas écrinas, como também fatores enzimáticos e outros relacionados com as características individuais, como idade, gênero e raça (FLUHR; ELIAS, 2002).

Sob o EC estão presentes camadas viáveis como o estrato granuloso, estrato espinhoso e a camada basal. A camada basal é a camada representativa das células germinais, produzindo ativamente novas células via mitose. A divisão celular na camada basal eventualmente se move em direção ao EC. Durante esse período as células sofrem alterações morfológicas e histoquímicas (queratinização) para renovação do EC, fazendo com que a perda de células do EC seja sempre compensada. O complexo epidérmico também inclui unhas, folículos pilossebáceos, glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e glandulares, juntamente com seus ductos excretores. São geralmente descritos como anexos epidérmicos (MCGRATH; UITTO, 2016).

A epiderme está inserida na derme através de uma rede complexa de proteínas e glicoproteínas que se estendem do interior dos queratinócitos basais até a região superficial da derme. Além da adesão, os componentes da junção dermoepidérmica também contribuem para a migração celular (como durante a cicatrização de feridas), bem como na atuação como sinalizadores epiteliais. Diversas macromoléculas (colágenos, lamininas e integrinas) interagem dentro da região da membrana basal com menos de 200 μm de diâmetro (MCGRATH; UITTO, 2016)

A derme tem aproximadamente 2 a 3 mm de espessura e consiste principalmente de fibras do tecido conjuntivo que ancoram a epiderme, como fibras colágenas (70%) e elastina que conferem rigidez e elasticidade à pele (LIU *et al.*, 2014) Os vasos sanguíneos da camada dérmica é a chave para manter a temperatura da pele, fornecer oxigênio e nutrientes para a derme e epiderme. Nervos, macrófagos

e vasos linfáticos também estão presentes na camada dérmica (MCGRATH; UITTO, 2016)

O colágeno é a principal proteína presente na matriz extracelular, compreendendo cerca de 80 a 85% do peso anidro da derme. Vinte e nove colágenos diferentes foram identificados nos tecidos dos vertebrados (representados por números romanos na ordem em que foram descobertos, de I a XXIX), dos quais pelo menos 12 são expressos na pele. Os principais colágenos dérmicos intersticiais são os tipos I e III, enquanto o principal colágeno da membrana basal (na junção dérmico-epidérmica e ao redor dos vasos sanguíneos dérmicos, nervos e apêndices) é o colágeno tipo IV. Os monômeros de colágeno tri-helicoidais polimerizam em fibrilas e fibras, que depois se estabilizam pela formação complexa de ligações cruzadas intra e intermoleculares. As fibras de colágeno são extremamente resistentes e proporcionam resistência à tração à pele (BOUWSTRA *et al.*, 2003)

Além do colágeno e elastina a derme também possui outras macromoléculas como as glicosaminoglicanos e proteoglicanos que favorecem a adesão e motilidade celular. São componentes chave da matriz extra celular que dão suporte estrutural para a derme, como a fibronectina e o ácido hialurônico. Eles contribuem com apenas 0,1 a 0,3% do peso anidro da derme, mas fornecem um papel vital na manutenção da hidratação, principalmente devido à alta capacidade de retenção de água do ácido hialurônico. Cerca de 60% do peso total da derme é água. (MCGRATH; UITTO, 2016)

Abaixo da derme se encontra a camada subcutânea (hipoderme), sendo a camada mais profunda da pele e consiste em um tecido de células adiposas. É a camada de contato entre a pele e os tecidos subjacentes do corpo, como músculos e ossos. As principais funções da hipoderme são proteção contra choques mecânicos, isolamento térmico e suporte e condutância dos sinais vasculares e neurais da pele (MENON, 2002)

A pele é diariamente exposta à diversos fatores exógenos que podem comprometer a sua integridade, causando um aumento na perda transepidérmica de água (TEWL) e alterações nas proteínas e lipídios do EC. Essa umidade perdida pode levar progressivamente o comprometimento da pele, resultando em perda de elasticidade, aumento da secura e rugosidade da pele. Esse comprometimento de sua

integridade é considerado exacerbador para muitas doenças como dermatite atópica e outras doenças crônicas da pele (PURNAMAWATI *et al.*, 2017).

Para isso é necessário que esses fatores sejam contidos por mecanismos de autorreparo e auto-hidratação ou por aplicação de produtos hidratantes. Foi demonstrado que com o uso de hidratantes é capaz de restaurar a integridade do EC, atuando como uma barreira oclusiva à perda de água, reposição de lipídios e outros componentes essenciais da pele (NOLAN; MARMUR, 2012). Ao restaurar a barreira da pele, além da proteção dos danos diários causados pelo meio ambiente também podem retardar o envelhecimento da pele (VERDIER-SÉVRAIN; BONTÉ, 2007). Conseqüentemente, o desenvolvimento de veículos de uso tópico para uso em formulações que visam melhorar a função de barreira é de grande importância para a dermatologia clínica e cosmiátrica.

2.2 FARMÁCIA MAGISTRAL

A arte e a ciência da preparação magistral, processo pelo qual um farmacêutico transforma ingredientes em medicamentos feitos sob medida para cada paciente, é uma prática que pode ser considerada tão antiga quanto próprio homem na Terra. Não é possível determinar quando os seres humanos começaram a misturar substâncias e passaram a criar preparações com ações terapêuticas, reais ou aparentes, mas sabe-se que as preparações de uso medicinal manipuladas a partir de ingredientes ativos de fontes animais, vegetais e minerais foi extensamente aperfeiçoada por uma série de civilizações antigas (ALLEN, 2006). As civilizações do Egito Antigo, Grécia, Roma e os povos árabes, por exemplo, desenvolveram alto nível de complexidade nas ciências médicas, abrangendo vários aspectos da farmácia e de medicamentos manipulados (HIGBY, 2003).

Essas civilizações antigas utilizavam preparações farmacêuticas para higiene pessoal e bem estar, tratamento de doenças, preparação dos mortos, rituais de cunho religioso entre outros. Faziam parte dessas preparações a produção de óleos vegetais, a descoberta de venenos e antídotos, preparações dermatológicas como pomadas para feridas e afecções da pele bem como o desenvolvimento da arte da perfumaria (COWEN; HELFAND, 1990).

Tradicionalmente no Ocidente temos a tendência de conectar nossa herança da profissão farmacêutica ao nome de Galeno (130-200 d.C.). Considerado o “Pai da Farmácia” transformou a patologia humoral de Hipócrates numa teoria mais racional e sistemática, classificando centenas de drogas de origem vegetal, animal e mineral através de suas propriedades físicas e terapêuticas. Galeno foi um dos primeiros a estabelecer uma ligação entre o corpo e a alma, assim como tratar doenças de acordo com a teoria dos 4 humores, previamente descrita por Hipócrates. Além disso desenvolveu um guia prático para a seleção de tratamentos medicinais e apresentou uma profusão de fórmulas medicamentosas que influenciou a medicina ocidental por muitos séculos (KREMERS; SONNEDECKER, 1986).

Nos tempos medievais a arte da preparação magistral continuou com a igreja católica onde padres e freiras criavam misturas específicas para tratamento de doentes em suas comunidades. A religião e as crenças espirituais estavam frequentemente entrelaçadas com as formulações farmacêuticas desenvolvidas durante essa época (STROCCHIA, 2011). E na medida em que as ciências farmacêuticas foram sendo desenvolvidas também houve, paralelamente, um desenvolvimento na área da alquimia e da toxicologia fundamentada pelos trabalhos antecedentes dos gregos e indianos e pelos conhecimentos empíricos da época. No entanto, apesar dos alquimistas não terem conseguido realizar a transmutação de metais, tampouco obter a lendária pedra filosofal, eles conseguiram melhorar técnicas, equipamentos e processos químicos aplicados à farmácia. Os alquimistas desenvolveram sua própria metodologia, simbolismo e estilo de comunicação (TSCHANZ, 2003).

O desenvolvimento da farmácia profissional, como uma entidade separada das ciências médicas, começou no período do renascimento islâmico no intervalo de tempo do século IX ao XIII, que ficou conhecido como o “Período de Ouro da Ciência Árabe” (MASIC *et al.*, 2017). Essa separação distinta entre as duas profissões e o reconhecimento do *status* independente e da organização acadêmica da profissão farmacêutica materializou -se em Bagdá sob o califado Abássida e teve a contribuição de vários farmacêuticos, que foram capazes de utilizar seus recursos (culturais e naturais) e vínculos comerciais para o aperfeiçoamento das ciências farmacêuticas (HADZOVIC, 1996).

No Brasil o exercício da atividade farmacêutica iniciou-se no período pré-colonial, em meados do século XVI. Nessa época a população nativa brasileira aplicava os conhecimentos terapêuticos que os colonos, missionários, viajantes e militares detinham de algumas plantas brasileiras para preparar medicamentos e ajudar no tratamento de doentes. Após a chegada dos jesuítas, durante a fase de colonização, foram instaladas as primeiras boticas, que seriam precursoras das farmácias magistrais. Elas seguiam modelos europeus de farmácia e objetivavam dispensar preparações magistrais e medicamentos provenientes de insumos dos países europeus. O interesse pela flora brasileira para uso terapêutico deveu-se inicialmente pela necessidade prática. A inconstância nos fornecimentos de insumos e medicamentos europeu levou os jesuítas e os médicos naturalistas a recorrerem às drogas nativas para a prestação de serviços médicos. A riqueza da flora brasileira juntamente com os conhecimentos dos povos indígenas sobre as plantas medicinais da região permitiu que jesuítas e médicos naturalistas publicassem os primeiros manuscritos de catalogação e classificação da flora nacional (THOMAZ, 2001).

Com a mudança da Família Real em 1808 para o Brasil deu-se início a vários movimentos culturais e científicos para fortalecer a colônia, tendo em vista as péssimas condições sanitárias e de higiene que o Brasil se encontrava naquela época. Nos anos seguintes a profissionalização das ciências farmacêuticas foi se estabelecendo com o surgimento das primeiras escolas de farmácia. As boticas foram gradualmente substituídas pelas “Pharmacias”, cuja produção ainda permanecia de modo artesanal e as preparações magistrais eram fundamentadas em compêndios nacionais e formulários internacionais (THOMAZ, 2001).

Durante as primeiras décadas do século XX iniciou-se o processo de industrialização e desenvolvimento tecnológico do setor farmacêutico, resultando na produção em larga escala de medicamentos com maior uniformidade e eficiência na produção. As farmácias magistrais foram perdendo espaço à medida que a manufatura de medicamentos em massa foi se desenvolvendo. Assim, deu-se espaço para o surgimento de dois novos tipos de estabelecimentos: a drogaria, que assumiu o papel da farmácia e se tornou o estabelecimento comercial onde era realizada a dispensação de medicamentos industrializados e o laboratório industrial de produção de medicamentos, onde os medicamentos eram produzidos em larga escala (FERREIRA, 2019).

No entanto, o processo industrial também trouxe certo grau de despersonalização ao tratamento medicamentoso. Com o medicamento manufaturado é o paciente que precisa se adaptar ao medicamento, uma vez que são disponibilizados em doses pré-determinadas, formas farmacêuticas limitadas e não levam em consideração as características individuais, não sendo capaz de cobrir todas as lacunas terapêuticas (SÁNCHEZ-REGAÑA *et al.*, 2013).

No início da década de 80 a farmácia magistral começou a ressurgir e o número de prescrições individualizadas aumentaram. Em parte, devido aos fabricantes de medicamentos industrializados começarem a diminuir o número de apresentações e concentrações disponíveis. Também vários medicamentos foram sendo descontinuados de fabricação pelos laboratórios. Ademais, os medicamentos industrializados eram introduzidos no mercado com formas farmacêuticas limitadas, em especial os líquidos orais de uso pediátrico. Muitos médicos precisavam prescrever medicamentos na dose, concentração ou forma farmacêutica alternativa, não disponíveis comercialmente e devendo ser preparadas pelas farmácias magistrais (FERREIRA, 2009).

Com o aumento da demanda de medicamentos manipulados o setor magistral registrou uma expansão em todo Brasil, resultando em uma maior atenção acerca da qualidade destes produtos. Até o início do século XXI as farmácias magistrais careciam de normas que estabelecessem os padrões mínimos de Boas Práticas de Manipulação, no que se refere aos aspectos técnicos, científicos e sanitários específicos à sua atividade. No ano de 2000 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a RDC 33, sendo o primeiro conjunto de normas que regulamentou o setor magistral. Esta resolução estabeleceu os requisitos mínimos para a atividade magistral e instituiu as boas práticas de manipulação em farmácias de forma a assegurar a qualidade dos produtos magistrais.

Nos anos seguintes foram publicadas novas resoluções visando aumentar o rigor técnico e a segurança das preparações magistrais. Em outubro de 2007 foi publicada a RDC N° 67 na qual foram revisados pontos falhos de resoluções passadas e foram introduzidas várias novas exigências a serem cumpridas para atender os requisitos mínimos de qualidade para o exercício da atividade magistral, sendo vigente até hoje, apenas da Resolução RDC N° 87 de 2008 ter atualizado alguns pontos.

Em consequência da expansão do setor magistral nas últimas décadas, da necessidade de adequação à normas sanitárias rígidas e de consumidores cada vez mais exigentes, fez com que as farmácias magistrais se modernizassem e novas tecnologias foram introduzidas. Hoje os farmacêuticos magistrais possuem uma infinidade de equipamentos disponíveis, que não se encontrava décadas atrás, numerosos fornecedores de insumos (farmacêuticos, alimentícios e cosméticos), transformando a farmácia magistral num notável segmento com ampla oferta de produtos e serviços de saúde feitos sob medida para os consumidores (BONFILIO *et al.*, 2010).

Segundo os dados da Associação Nacional de Farmacêuticos Magistrais (ANFARMAG) o Brasil continua sendo o maior mercado do mundo no segmento magistral. O número de farmácias vem aumentando expressivamente segundo o panorama setorial da ANFARMAG (2018) e no período entre 2014 até abril de 2018 houve um aumento de 8,8%, mostrando que o setor não se abalou durante a crise econômica e instabilidade política da época. O número estabelecimentos em funcionamento contabilizado no ano de 2018 foi de 7.545 unidades, juntos estas empresas somaram um faturamento de R\$ 5,75 bilhões no ano de 2017.

Esse faturamento é composto pela comercialização de diversos tipos de produtos e serviços como medicamentos, suplementos alimentares, dermocosméticos além da revenda de produtos industrializados de saúde e prestação de serviços farmacêuticos. As formulações magistrais dermocosméticas tem obtido um lugar de destaque entre as categorias de vendas da farmácia. O acesso a compra de praticamente todos os insumos que estão disponíveis para a indústria cosmética mundial, a versatilidade da produção em pequena escala e a possibilidade do prescritor criar sua própria formulação com associações e dosagens específicas para o paciente faz um nicho promissor na área da cosmetologia.

2.3 VEÍCULOS DERMATOLÓGICOS E COSMÉTICOS

Em preparações dermatológicas e cosméticas o ingrediente ativo raramente é aplicado diretamente à pele em sua forma química pura, ele precisa ser incorporado a um meio transportador. Esse transportador também é chamado de base ou veículo (SURBER; KNIE, 2018). Além de exercer a função de armazenar e liberar

os ingredientes ativos na pele também tem a capacidade de influenciar diversas propriedades em preparações dermatológicas e cosméticas. Isso se deve ao fato do tecido alvo ser tratado diretamente, fazendo com que o veículo e seus componentes ativos possam modular significativamente algumas das características e funções da pele (SURBER; KOTTNER, 2017). Dependendo do tipo e da composição o veículo pode conter diversos excipientes funcionais que contribuem para a integridade da pele, como melhora da hidratação e da propriedade de barreira do estrato córneo. Outro papel importante dos veículos é que eles podem exercer grande influência sobre a taxa de liberação, dérmica e transdérmica, dos ingredientes ativos (OTTO; PLESSIS; WIECHERS, 2009).

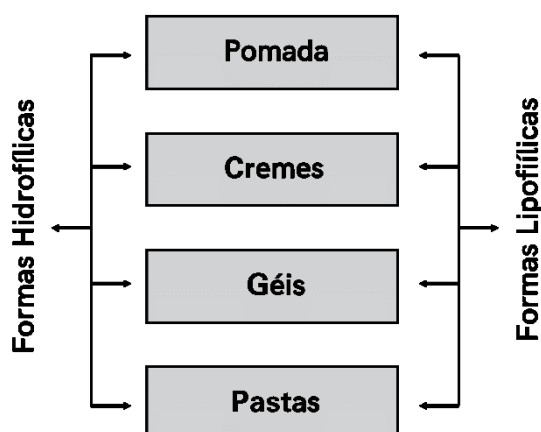
Até o começo do século XX muitos veículos empregados em preparações dermatológicas foram desenvolvidos por médicos e farmacêuticos conforme o conhecimento empírico da época, sendo consideradas formulações magistrais. Ao longo dos anos diversas formulações e veículos dermatológicos de uso tópico foram sendo listadas em compêndios oficiais e farmacopeias de diversos países. Conforme elas foram sendo utilizadas e testadas no decorrer dos anos, foi se desenvolvendo novas técnicas de produção e controle de qualidade mais rigoroso na escolha das matérias-primas e dos processos de produção (SURBER; SMITH, 2005). Assim, os veículos dermatológicos e cosméticos foram se modernizando e sendo desenvolvidos de maneira personalizada para que os ingredientes ativos (farmacêuticos e cosméticos) selecionados tivessem compatibilidade com o veículo, garantindo melhor eficácia, estabilidade físico-química, atoxicidade e aceitabilidade estética pelo paciente e consumidor. (OTTO; DU PLESSIS; WIECHERS, 2009).

Dependendo do perfil do produto farmacêutico ou cosmético, o caráter dos requisitos pode variar significativamente, como propriedades do veículo e seus efeitos intrínsecos, clareza da indicação, circunstâncias patológicas do indivíduo e características dos ingredientes ativos (WOHLRAB, 2016). Dessa forma, para que um veículo possa ser considerado “multifuncional” para uso em preparações farmacêuticas e cosméticas ele deve atender diversos parâmetros; deve ser de fácil aplicação e remoção, ser atóxico, não sensibilizante, hipoalergênico, estável físico e quimicamente, homogêneo, ter controle microbiológico, ser farmacologicamente inerte, ter sensorial agradável e ser capaz de liberar os ingredientes ativos de forma controlada ou direcionada (SURBER; SMITH, 2005). Ainda é necessário compreender

a complexidade das variáveis existentes nessas preparações, que, em se tratando de veículo, é de competência inerente do farmacêutico. Os dermatologistas também precisam ter um conhecimento considerável para decidir qual o melhor veículo em cada contexto clínico (WOHLRAB, 2016).

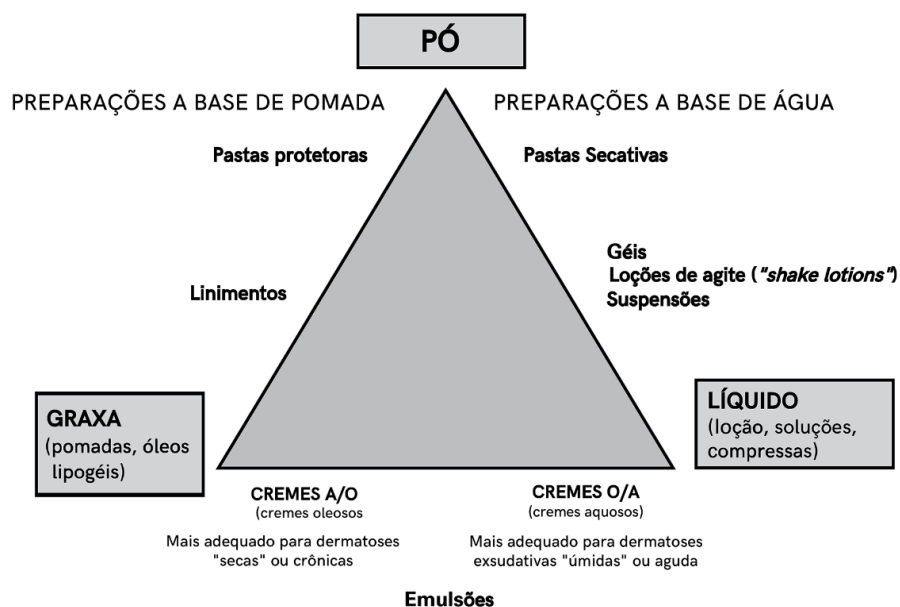
Os veículos de uso dermatológicos podem ser classificados de diferentes formas. De acordo com a nomenclatura utilizada em farmacopeias (Figura 2) que os classifica de acordo com a suas diferentes propriedades reológicas como pomadas, unguentos, pastas, cremes, géis, ceratos e cataplasmas. Podem ser classificados também pelas características físico-químicas de sua matriz estrutural como monofásica (ex. géis e pomadas), bifásica (ex. cremes) ou trifásica (ex. cremes e pastas). Outra classificação está relacionada com o conteúdo de água presente, sendo denominadas hidrofílicas ou hidrofóbicas. Na Figura 3 está representada a combinação da nomenclatura farmacêutica, da matriz estrutural e da sua indicação (SURBER; SMITH, 2005).

Figura 2 - A nomenclatura farmacopeica usada para classificar formulações tópicas.



Fonte: adaptado de Suber, 2005.

Figura 3 - Nomenclatura farmacêutica combinada com a matriz estrutural e da sua indicação.



Fonte: adaptado de Suber, 2005

No universo magistral, ainda existem desafios adicionais em relação às propriedades do veículo que precisam ser considerados. Para um veículo ser multifuncional, uso em preparações cosméticas e dermatológicas diversas, é crucial ele ser compatível e estável com cada adjuvante e cada ingrediente ativo da formulação. Não é incomum as farmácias magistrais receberem prescrições, dermatológicas e cosméticas, com componentes de natureza distinta (como ácidos lipofílicos e hidrofílicos, sais (eletrólitos) e óleos nas mais variadas concentrações e associações. Em adição, o farmacêutico magistral deve assegurar a qualidade físico-química e microbiológica de todos os produtos que dispensam (CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA, 2007). Nesse contexto, se o farmacêutico magistral e os prescritores estiverem cientes das informações disponíveis acerca dos recursos e do desempenho do veículo, o tratamento individualizado será aprimorado.

Considerando ainda que o mercado de cosméticos e de cuidados pessoais tem sido cada vez mais direcionado para utilização de ingredientes naturais, pela crescente conscientização dos consumidores e conseqüentemente pela procura de cosméticos mais seguros, livres de substâncias nocivas, esforços na área de

pesquisa e desenvolvimento de veículos naturais para o uso magistral são de grande valia (AMBERG; FOGARASSY, 2019).

2.4 EMULSÕES

As formulações cosméticas e farmacêuticas de uso tópico são multifacetadas, podendo variar na sua forma líquida (soluções aquosas e suspensões), na forma semissólida (géis, emulsões e pomadas) e formas sólidas (pós e adesivos transdérmicos) (SURBER; SMITH, 2005).

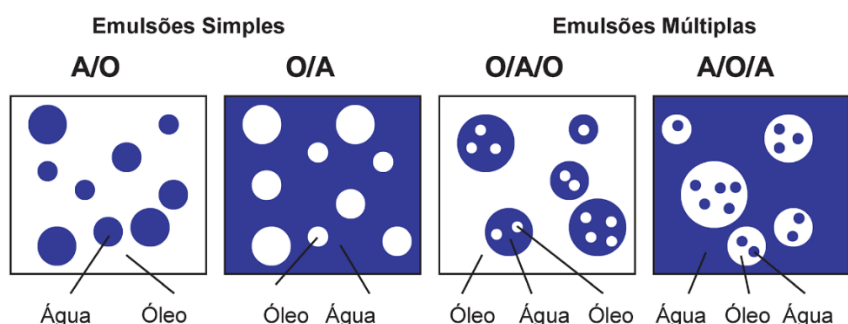
Emulsões são as formas mais comuns de veículos de uso tópico, tanto em produtos farmacêuticos como em cosméticos (EPSTEIN, 2009). São referenciadas como creme ou loção. A diferença entre essas duas formas se dá principalmente pela viscosidade, os cremes são semissólidos de maior viscosidade, enquanto as loções são mais fluídas. A preferência pelas emulsões se deve às suas propriedades e funções. Essa forma farmacêutica consegue veicular uma grande variedade e quantidade de ingredientes ativos de caráter lipofílico e hidrofílicos, possui melhor ação hidratante quando comparado com géis, possui uma boa absorção e consegue liberar os ingredientes ativos à pele de maneira eficiente. Podemos ainda destacar a capacidade do controle da viscosidade, juntamente com sua facilidade de preparação, estabilidade a longo prazo e pelas propriedades estéticas que atendem as expectativas dos consumidores (SURBE; KNIE 2018).

Por definição, as emulsões são consideradas sistemas instáveis que consistem em dois ou mais líquidos imiscíveis, nas quais um dos líquidos é suspenso ou disperso no outro como pequenas gotículas (0,1–100 µm para macroemulsões). Como os líquidos são insolúveis entre si e mutuamente incompatíveis, requerem agentes emulsificantes (surfactantes) para a formação e estabilização da emulsão. A escolha do sistema emulsificante é crucial no processo de formação da emulsão e da sua estabilidade física a longo prazo. As emulsões podem ser classificadas de acordo com a natureza do emulsificante ou pelo seu sistema estrutural (TADROS, 2013). Embora haja uma diferença tênue entre o termo “surfactante” e “emulsionante”, neste trabalho utilizaremos esses termos de forma intercambiável.

Existem vários tipos de emulsão dos quais podemos destacar água em óleo (A/O), óleo em água (O/A), água em silicone (A/Si) emulsões múltiplas (A/O/A;

O/A/O) (Figura 4) e outras como emulgéis, dispersões hidrolipídicas, microemulsões e mais recentemente as nanoemulsões. O tipo do emulsionante é que irá determinar qual tipo de emulsão será formada (EPSTEIN, 2009). A emulsão O/A é a forma utilizada em formulações cosméticas, a fase oleosa está dispersa no meio aquoso (fase externa ou contínua). É fácil de imaginar que esse tipo de emulsão tende a ter um caráter sensorial menos oleoso, pois, devido a fase externa ser aquosa há uma evaporação de água mais acelerada, o que transmite uma sensação de “resfriamento” imediato pele (SURBER; KOTTNER, 2017).

Figura 4 - Principais tipos de emulsões.



Fonte: adaptado de Daniels, 2007.

Um emulsionante é uma molécula anfifílica, que se organiza nas interfaces entre as duas fases imiscíveis (O/A) reduzindo a tensão interfacial entre as duas fases e dispersando as gotículas de óleo e água. Em emulsões O/A eles se organizam com as caudas hidrofóbicas na fase oleosa (interna) e as cabeças hidrofílicas na fase aquosa (externa). Os emulsionantes desempenham um papel crucial na formação de emulsões estáveis. Além de reduzir a tensão interfacial, participam de outros fenômenos que contribuem para a estabilização de uma emulsão como formação de um filme complexo nas superfícies das gotículas da fase dispersa, formação de camada elétrica ao redor das gotículas da emulsão e estruturas de cristais líquidos lamelares (OTTO *et al.*, 2010)

Os emulsionantes utilizados na área cosmética e farmacêutica geralmente compreendem misturas de polímeros e de emulsionantes, tradicionalmente chamadas de ceras ou bases autoemulsionantes. A maioria dessas bases autoemulsionantes possuem carga iônica (positiva ou negativa) ou são neutras (não-iônica). Essas misturas facilitam o processo de formação e estabilidade da

emulsão como também consegue-se obter melhor controle das suas propriedades reológicas. Algumas bases autoemulsionantes conseguem ainda se organizar em estruturas de cristais líquidos lamelares e são muito eficazes na estabilização da emulsão (ECCLESTON, 1997).

A formação dessas estruturas líquidas cristalinas é o resultado de uma complexa organização molecular exercida por forças intermoleculares que combinam propriedades do estado líquido e sólido. São referenciadas como cristais pois é como se perdessem sua conformação espacial, mas sua orientação continua alinhada como em um cristal sólido e não desorganizada como um líquido. A escolha dos emulsionantes e co-emulsificante é de fato o principal fator para a formação desses sistemas líquido-cristalinos. A associação de um co-emulsificante aniônico O/A de alta polaridade tem demonstrado otimizar a estabilidade dos cristais líquidos lamelares. Essa estrutura da emulsão multilamelar apresenta uma organização molecular parecida com as camadas lipídicas do EC, mimetizando de certa forma a sua matriz lipídica intercelular (NORLÉN, 2001). Por isso demonstram melhor compatibilidade cutânea e capacidade de liberação dos ingredientes ativos através do EC (ISAAC *et al.*, 2013).

As emulsões são tradicionalmente produzidas pelo método de dispersão. Esse método geralmente se refere à agitação mecânica utilizando um agitador mecânico ou um homogeneizador, preparando separadamente as fases oleosa e aquosa e depois misturando-as sob elevada turbulência e cisalhamento que fornecem energia suficiente à mistura de óleo e água, de modo que uma das fases (óleo ou água) seja dispersa na outra na forma de pequenas gotículas. (NARSIMHAN; GOEL, 2001) Parâmetros críticos do processo como temperatura, tipo de elemento dispersor (haste), velocidade, tempo de emulsificação e condições de resfriamento são determinantes para a qualidade da emulsão (ALBERT *et al.*, 2019).

A distribuição do tamanho das gotículas geradas pelo processo de emulsificação é resultado da disputa de dois processos contrários, do cisalhamento das gotículas e da coalescência dessas gotículas. São processos ocasionados pela intensa energia gerada pelo aquecimento e agitação da mistura óleo-água no interior do compartimento de emulsificação. O resultado da emulsificação depende principalmente de quatro fatores: condições hidrodinâmicas do dispositivo de mistura,

grau de viscosidade, fração de volume da fase oleosa e aquosa e do tipo e concentração do sistema emulsionante (TCHOLAKOVA; DENKOV; BANNER, 2004).

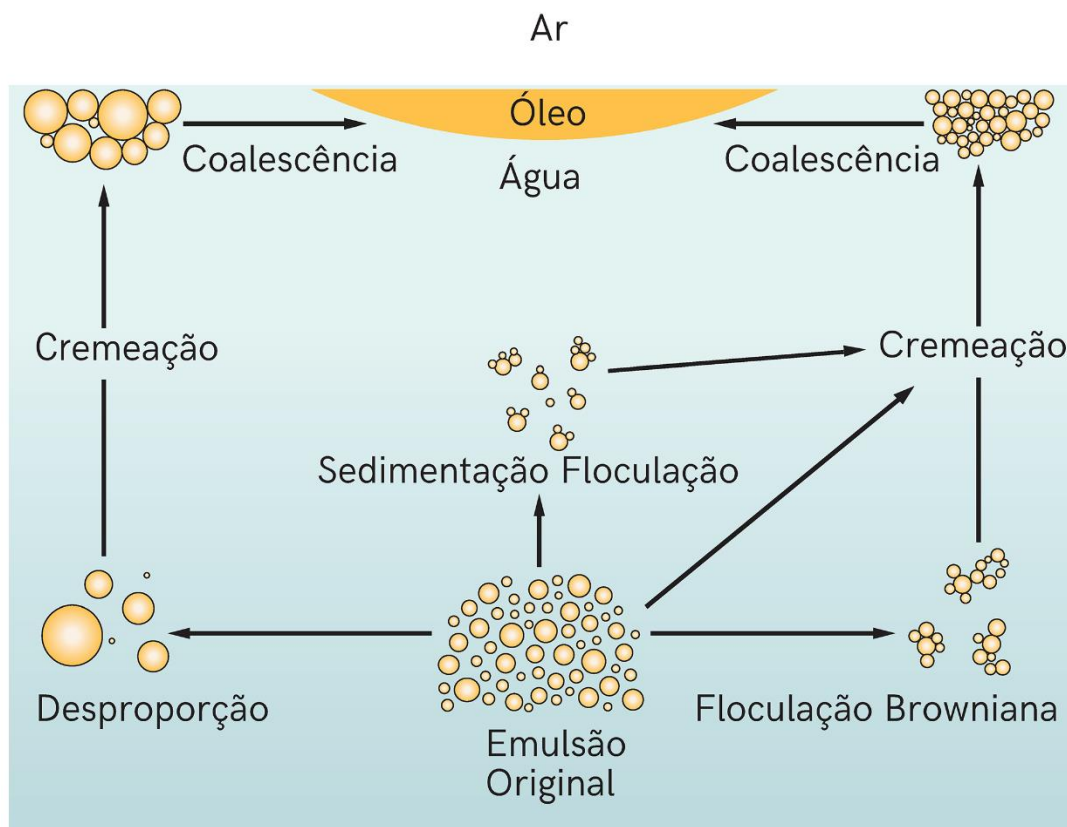
Embora os veículos baseados nessas bases autoemulsificantes atendam aos critérios de uso em formulações cosméticas e farmacêuticas, dependendo de sua estrutura o seu uso pode causar reações adversas à pele ou influenciar negativamente na aparência e no sensorial pós aplicação (AL-BAWAB; FRIBERG, 2006). Dessa forma, a seleção criteriosa dos agentes emulsionantes é de extrema importância para que a formulação possa ter uma boa compatibilidade para a pele. O estudo de eficácia *in vivo* por técnicas biofísicas (detalhada nos próximos tópicos) representa uma valiosa ferramenta para avaliar a compatibilidade cutânea da formulação em diversos parâmetros, dentre eles o efeito da hidratação e TEWL (MCMULLEN; GORCEA; CHEN, 2016).

2.4.1 Estabilidade de emulsões

A formulação de emulsões cosméticas tem sido tradicionalmente considerada mais uma arte do que uma ciência. É preciso considerar diversos fatores durante o seu desenvolvimento para que parâmetros como a qualidade da emulsão produzida, estabilidade físico-química e microbiológica a longo prazo e expectativas dos consumidores sejam atendidos. Quanto a seleção dos componentes de uma emulsão cosmética, hoje temos uma ampla variedade de opções de matérias-primas disponíveis e os fabricantes possuem informações abrangentes sobre seus produtos para ajudar os formuladores a equilibrar com criatividade os componentes de uma formulação cosmética, como a relação da quantidade e proporção de modificadores de reologia, emulsionantes e emolientes para obter emulsões estáveis (CALIXTO; INFANTE; MAIA CAMPOS, 2018).

A falta de um planejamento adequado no desenvolvimento de uma formulação pode gerar fenômenos de instabilidade, conforme demonstra a Figura 5. Como as emulsões são sistemas inerentemente instáveis, esses efeitos podem decorrer da escolha inadequada dos componentes da formulação, em especial dos emulsionantes. Tais instabilidades também podem provir do método de emulsificação e de muitas outras variáveis (TADROS, 2013).

Figura 5 - Representação esquemática dos mecanismos que levam a coalescência de uma emulsão O/A.



Fonte: adaptado de Particle Sciences, 2011.

De acordo com Tadros (2013), seguem abaixo exemplos de fenômenos de instabilidade:

- Quebra (“*Cracking*”): processo de desestabilização irreversível da emulsão, quando a fase dispersa se separa da fase contínua. Normalmente isso ocorre primeiro por floculação (aglomeração de gotículas juntas) e em seguida por coalescência (fusão real de gotículas).
- Cremeação e Sedimentação: são processos resultantes da diferença de densidade entre as fases da emulsão e do aglutinamento das gotículas oleosas da fase interna (emulsão O/A). A cremeação é o principal processo pelo qual a fase dispersa desprende-se da emulsão sendo tipicamente o precursor da coalescência. Já o processo de sedimentação advém quando

a densidade da fase interna é maior que da fase externa, ocasionando sedimentação.

- **Floculação:** nesse processo as gotículas da fase interna não estão necessariamente com alteração no seu tamanho, mas ocorre pela ausência de repulsão suficiente para mantê-las afastadas da atração das forças de Van der Waals. A intensidade da floculação depende da magnitude da energia atraiante envolvida. Nos casos mais brandos, a estrutura original pode ser restabelecida pela redispersão das partículas por agitação (cisalhamento).
- **Desproporção:** também chamado de maturação de *Ostwald*, é o resultado da solubilidade finita das fases líquidas. Os líquidos ditos como imiscíveis possuem certo teor de solubilidades mútuas que não é desprezível. Nas emulsões as gotículas menores terão maior solubilidade quando comparadas às maiores. Com o passar do tempo as gotículas menores desaparecem e suas moléculas se difundem e se depositam nas gotículas maiores, causando um aumento na distribuição do tamanho das gotículas.
- **Coalescência:** esse fenômeno se refere ao processo da fusão de duas ou mais gotículas nas maiores pela interrupção do filme líquido entre elas. Este é um processo severo e considerado irreversível. Ao final do processo a emulsão se rompe completamente formando duas fases líquidas distintas.
- **Inversão de fases:** A inversão ocorre em uma emulsão quando a fase dispersa se torna a fase contínua e vice-versa. Por exemplo, uma emulsão O/A inverte-se em uma emulsão A/O por ação do tempo ou mudanças nas condições.

Uma diretriz que permite ao formulador assegurar a estabilidade da formulação é selecionar corretamente o sistema emulsionante da emulsão, visto que ainda é frequentemente realizada por método de tentativa e erro (base empírica). Um método semiempírico para a escolha dos emulsionantes é de acordo com o valor do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL), proposto por Griffin (1949). Esse célebre método consiste em uma escala baseada na porcentagem relativa de grupos lipofílicos e hidrofílicos presentes nas moléculas dos emulsionantes. A escala varia de 0 a 20, com o valor 0 pertencendo a compostos de alto comportamento lipofílico e 20 aos mais hidrofílicos. O valor do EHL é calculado matematicamente por um sistema de

classificação desenvolvida por Griffin (1949) que tem como principal fator a natureza do óleo (TADROS, 2013). Assim, sistemas emulsificantes com baixo valor de EHL tendem a formar emulsões A/O e os de alto EHL formam emulsões O/A.

Embora seja de grande aplicabilidade para formuladores cosméticos e farmacêuticos, esse sistema é aplicável apenas para moléculas não iônicas e ingredientes derivados de polietilenoglicol (PEG). Muitas bases autoemulsionantes de origem natural, que são livres de PEG, possuem algumas características iônicas. Dessa forma o sistema EHL não pode ser utilizado em muitos casos pois não está totalmente adaptado a esses emulsionantes modernos. (PASQUALI; TAUROZZI; BREGNI, 2008). Sem contar que a maioria dos fabricantes das bases autoemulsionantes naturais não mencionam nenhum valor de EHL nos seus produtos, ou quando mencionam é apenas uma faixa aproximada.

Para evitar a formação dessas instabilidades supra citadas, existem várias estratégias que podem ser empregadas. Uma das principais medidas é a redução do tamanho das gotículas da fase interna durante o processo de emulsificação. Com isso, obtém-se uma distribuição de tamanho de partícula mais uniforme, gerando na maioria das vezes um aumento na viscosidade. A adição de modificadores de reologia (como gomas naturais ou a polímeros sintéticos) à fase externa além de aumentar a viscosidade e melhorar a estabilidade física contra temperatura alta pode promover melhorias no sensorial e na aparência da emulsão. Aumentando a concentração de emulsionantes pode-se melhorar a estabilidade da emulsão final, mas até um certo limite. De maneira geral os emulsionantes não iônicos fornecem estabilização estérica, devido à presença de emulsionante adsorvido ou pelas camadas poliméricas, enquanto os emulsionantes com cargas iônicas fornecem estabilização eletrostática, devido à criação de dupla camada elétrica (TADROS, 2013).

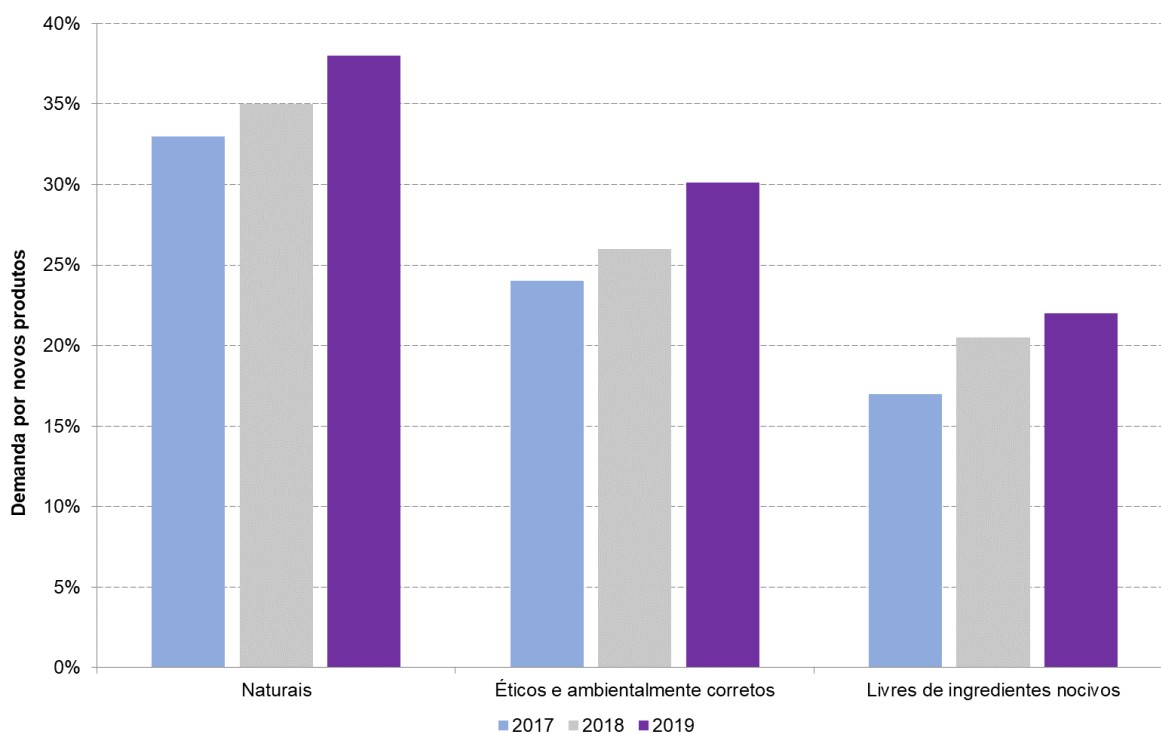
2.5 VEGETALIZAÇÃO DOS COSMÉTICOS

A pele é vista como elemento chave na formação da identidade pessoal. A aparência física está inseparavelmente conectada com o senso de identidade de cada indivíduo (YAGI; YONEI, 2017). Muitos buscam soluções para melhorar a aparência da pele, em especial, para retardar o processo de

envelhecimento cutâneo. Em vista disso, o desenvolvimento de novos produtos, ingredientes ativos e tratamentos para os cuidados da pele está na vanguarda da pesquisa dermatológica e da indústria cosmética (AHMED *et al.*, 2020).

Atualmente os consumidores estão cada vez mais preocupados não só com a sua saúde, mas também com o meio ambiente, exigindo produtos mais naturais, sustentáveis e ecológicos, incluindo cosméticos, alimentos e diversos outros produtos. À medida que os consumidores se tornam mais conscientes do impacto ecológico nas suas escolhas de compra, a indústria responde tentando prover alternativas naturais aos ingredientes sintéticos e reduzir o seu impacto ambiental. Ao mesmo tempo, os consumidores estão exigindo não só produtos isentos de ingredientes considerados tóxicos ou controversos (“livre de” ou “free from”) mas também por uma maior transparência e simplicidade nos ingredientes utilizados nos produtos cosméticos (AMBERG; FOGARASSY, 2019). A Figura 6 mostra a evolução global de novos produtos cosméticos lançados com alegações de serem “naturais”, “livre de” e “éticos e sustentáveis” nos últimos 3 anos.

Figura 6 - Evolução das alegações “naturais e ecológicas” no lançamento global de novos produtos para cuidados com a pele.



Fonte: adaptado de Mintel GNPD Março 2020.

No Brasil não existem regras ou definições para classificação de cosméticos naturais ou orgânicos pela ANVISA, sendo que em vários países do mundo também não há tais definições por parte de suas agências reguladoras (FONSECA-SANTOS; CORRÊA; CHORILLI, 2015). Uma das classificações mais utilizadas no mundo para definição de cosmético “natural” e “orgânico” é de acordo com os padrões da ECOCERT, uma agência de certificação francesa que possui subsidiárias em diversos países no mundo, incluindo no Brasil. Para ser considerado um produto cosmético orgânico ou natural, a fração de ingredientes vegetais precisa ser de 95%, sendo que nos cosméticos orgânicos a totalidade desses ingredientes precisam ser provenientes da agricultura orgânica e 50% para os cosméticos naturais (ECOCERT, 2012). Para os 5% restantes há uma lista restritiva de ingredientes (incluindo conservantes) autorizados para uso em pequena quantidade.

Apesar das empresas farmacêuticas e cosméticas estarem se ajustando a essa nova tendência de prática sustentável e lançando continuamente no mercado diversos produtos com alegações naturais, uma fatia razoável desses produtos são prescritos por dermatologistas de maneira individualizada, na forma de preparação magistral. Os veículos comumente utilizados nessas preparações dermatológicas ou cosméticas são produzidos pelas próprias farmácias magistrais ou vendidas prontas por fabricantes e fornecedores do setor. Até onde sabemos, inexistente no mercado nacional um veículo (creme) que ateste as condições estabelecida pela agência certificadora ECOCERT, para que possa ser considerado um veículo “natural”. Portanto, viabilizar um veículo dermatológico e cosmético que possa ser certificado como “natural” pode contribuir para a consolidação e expansão do mercado magistral.

2.6 BIOENGENHARIA CUTÂNEA

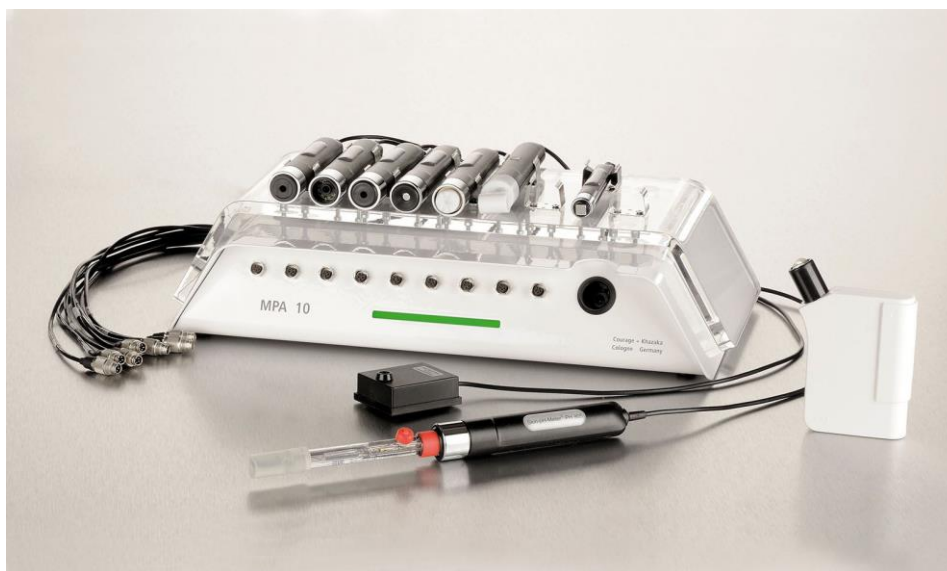
Bioengenharia cutânea ou também denominada como análise biofísica da pele, é o termo usado para descrever o estudo das características biológicas, mecânicas e funcionais da pele pela utilização de instrumentos científicos de medição. A bioengenharia cutânea é uma área que registrou um rápido crescimento nas últimas décadas, tanto em termos da variedade de equipamentos disponíveis quanto em suas crescentes aplicações em dermatotoxicologia,

dermatologia e cosmetologia (TAYLOR,2008). Tais equipamentos utilizam diferentes parâmetros que permitem avaliar as propriedades funcionais e morfológicas da pele bem como os efeitos da utilização de produtos dermocosméticos em suas reais condições de uso (MOHD ARIFFIN; HASHAM, 2020).

Existem diferentes métodos para avaliar a eficácia de produtos de uso tópico. Pode ser realizada uma avaliação clínica por técnicas biofísicas não invasivas, como a avaliação das propriedades dielétricas da pele e da medição do fluxo de vapor à superfície cutânea e por procedimentos invasivos, como a biópsia da pele. As técnicas invasivas como as biópsias, são traumáticas para os participantes, e sua análise clínica é considerada subjetiva e carece de uma avaliação instrumental mais precisa. Já as medições das propriedades biofísicas da pele ocorrem de maneira não invasiva, não causam nenhum desconforto significativo e não alteram as funções da pele em si. Além disso, elas oferecem a possibilidade de identificar e definir parâmetros mais objetivos, não sendo possível serem determinadas por avaliação visual. Além disso, a avaliação clínica não invasiva pode ser realizada por um avaliador treinado ou pelo próprio voluntário (DARLENSKI *et al.*, 2009).

O sistema Multi Probe Adapter (MPA) (Courage & Khazaka, Alemanha) (Figura 7) é um dos equipamentos mais utilizados para avaliar as propriedades biofísicas da pele. Esse dispositivo é equipado com sondas digitais específicas que analisam diferentes parâmetros da pele, e tem como vantagem a facilidade do ajuste de acordo com a necessidade do usuário. Os resultados das medições feitas pelas sondas são transmitidos simultaneamente para o *software* vinculado e os dados tanto da calibração da sonda como dos resultados são armazenados no sistema. Dentre os parâmetros de análise da pele que as sondas medem destacam-se: conteúdo aquoso do EC, TEWL, pH, conteúdo lipídico, pigmentação e elasticidade pelas sondas Corneometer®, Tewameter®, Skin-pH-Meter®, Sebumeter® SkinColorimeter®, e Cutometer® respectivamente (MOHD ARIFFIN; HASHAM, 2020). Os métodos e equipamentos de análise biofísica descritos abaixo se referem ao fabricante supra citado.

Figura 7 - O sistema Multi Probe Adapter (MPA) (Courage & Khazaka, Alemanha)



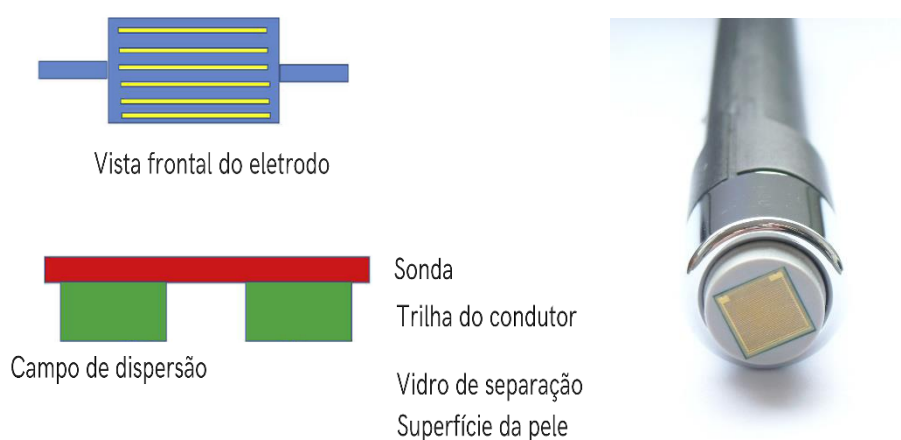
Fonte: Adaptado de Courage; Khazaka, 2020.

A hidratação adequada do EC é um dos fatores-chave para que desempenhe corretamente sua função de barreira cutânea. A diminuição do teor de água prejudica o processo natural de renovação celular e pode causar desidratação da pele tornando-a seca e xerótica. A aplicação de produtos hidratantes é normalmente utilizada para aliviar os sintomas do ressecamento da pele e melhorar a sua hidratação. Avaliar o estado de hidratação da camada superficial da pele é um parâmetro importante para determinar a eficácia desses produtos hidratantes bem como outros produtos com diferentes finalidades. A determinação da quantidade de água presente na camada do EC e sua capacidade de reter umidade é geralmente baseada em medições elétricas nas superfícies da pele (JANSEN VAN RENSBURG; FRANKEN; DU PLESSIS, 2019).

O equipamento Corneometer® (Courage & Khazaka, Alemanha) é considerado o instrumento mais utilizado no mundo em pesquisas e testes de eficácia em cosméticos, tendo se tornado o equipamento de referência para avaliar o conteúdo de umidade do EC. Ele é capaz de obter valores exatos e reprodutíveis do nível de hidratação da superfície da pele. O princípio de medição do Corneometer® baseia-se na medição da capacitância de um meio dielétrico (Figura 8). Qualquer alteração na constante dielétrica devido à variação da hidratação da superfície da pele altera a

capacitância do capacitor da sonda – o qual é altamente sensível e preciso. Este método apresenta como vantagem sofrer interferência mínima de produtos aplicados na pele durante as medições (COURAGE; KHAZAKA, 2020).

Figura 8 - Ilustração do princípio de medição do Corneometer® CM 825 e foto da cabeça da sonda.



Fonte: Adaptado de Courage; Khazaka, 2020.

A unidade de medida do Corneometer® é expressa em unidades arbitrárias (UA), que corresponde ao grau de hidratação da pele, com a escala variando de 0 a 120 (UA). Ao medir a hidratação quanto menor o valor mais seca a pele está. Uma pele hidratada possui uma pontuação superior. No entanto, em experimentação in vivo esta técnica apresenta um intervalo de sensibilidade de 20 a 110 UA. Assim, para valores de hidratação inferiores a 40 UA considera-se que a pele é muito seca, para valores situados entre 40 a 55 UA a pele é seca e valores superiores a 55 UA correspondem a uma pele com hidratação normal (TAKIWAKI, 2006). A tabela 1 ilustra os valores de hidratação da pele e interpretação da condição da pele.

Tabela 1 - Valores de hidratação cutânea e interpretação da condição da pele resultantes da corneometria (Corneometer® CM 825) expressos em unidades arbitrárias (UA).

Tipo de pele	UA
Muito seca	< 30
Seca	30 - 40
Normal	> 40

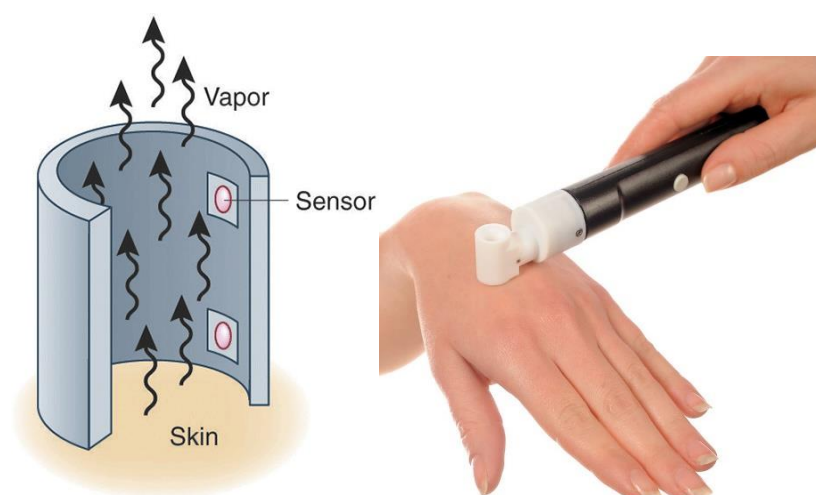
Fonte: adaptado de Heinrich *et al.*, 2003.

Outro parâmetro biofísico bastante utilizado é a avaliação da TEWL, que representa um importante indicador da saúde cutânea. Na epiderme da pele existe um gradiente de conteúdo hídrico, com o teor de umidade do EC sendo menor do que o das camadas mais profundas da epiderme e da derme. Devido a essa variação ocorre uma difusão passiva da água, que se inicia nas camadas mais profundas e mais hidratadas da derme e se move em direção a camada mais superficial do EC (SOTOODIAN; MAIBACH, 2012). Grande parte da água evapora da superfície da pele, enquanto uma fração da água é retida no estrato córneo. A essa quantidade de água perdida da pele devido à evaporação, na ausência de atividade das glândulas sudoríparas, é intitulado como TEWL (RENSBURG; FRANKEN; DU PLESSIS, 2019). Um valor baixo de TEWL representa que há proporcionalidade na relação entre TEWL e hidratação do EC. Já um aumento do valor de TEWL pode indicar um comprometimento da função da barreira da pele. Níveis elevados de TEWL podem ser causados por diversos fatores, por exemplo, danos ao EC pela exposição aguda ou crônica a substâncias irritantes, por doenças nas quais provocam uma queratinização anormal da pele como dermatite atópica (DA), dermatite de contato, psoríase, ictiose ou pelo ressecamento causado por um ambiente seco (LODEN, 2004).

Um dos dispositivos mais utilizados para medir a TEWL é a sonda Tewameter® (Courage & Khazaka, Alemanha). Sendo uma ferramenta de medida chave para pesquisas cosméticas e dermatológicas, principalmente por poder determinar a eficácia de diversos produtos de uso tópico e se a utilização desses produtos altera as condições da função de barreira do EC de maneira positiva ou negativa. A sonda Tewameter® consiste em uma câmara cilíndrica aberta composta

por dois pares de sensores (temperatura e umidade relativa), instalados no interior do cilindro oco. Quando a sonda é colocada em contato com a pele o vapor de água da superfície da pele difunde-se através da câmara e sai para o ambiente. O gradiente de umidade é calculado indiretamente a partir da leitura dos sensores (temperatura e umidade relativa) e os dados são analisados por um microprocessador (ALEXANDER *et al.*, 2018) (Figura 9). Os valores medidos expressam a taxa de evaporação em g/m²/h (Tabela 2).

Figura 9 - Ilustração do princípio de medição da TEWL utilizando o Tewameter® TM 300.



Fonte: adaptado de Alexander *et al.*, 2018.

Tabela 2 - Valores da perda transepidermica de água em valores g/m².h e interpretação da condição da pele.

Condição da pele	g/m ² .h
Muito saudável	0 - 10
Saudável	10 - 15
Normal	15 - 25
Pele esticada	25 - 30
Crítica	>30

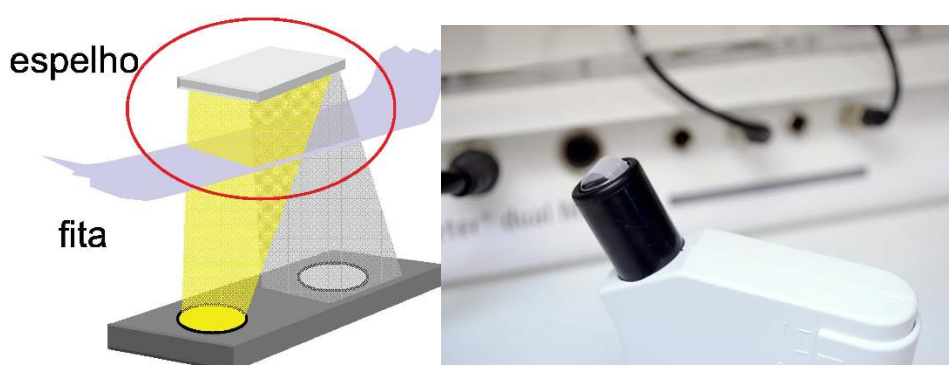
Fonte: adaptado de Heinrich *et al.*, 2003

Este método é o único a avaliar a TEWL continuamente sem influenciar seu micro ambiente (COURAGE; KHAZAKA, 2020). No entanto durante a sua utilização é essencial manter um ambiente controlado, pois fatores como a circulação de ar do ambiente, temperatura e umidade relativa do ambiente e fonte de luz próxima ao local de aplicação podem interferir nos resultados (FARAHMAND *et al.*, 2009). A utilização de uma câmara para realizar as medições e proteger da corrente de ar é apropriada para sistemas de câmara aberta como o Tewameter®. A temperatura da sala também precisa ser controlada e mantida abaixo de 22°C (limiar de transpiração) e a umidade relativa precisa ser estabelecida próximo a 50% (ROGIERS; GROUP, 2001). Devido à sensibilidade da sonda e oscilações nas medidas da TEWL são necessárias realizar três ou mais leituras em cada sítio de aplicação para fazer o cálculo da média (ALEXANDER *et al.*, 2018).

A através das técnicas biofísicas da pele também pode ser determinado o pH da pele. A natureza ácida da superfície da pele é conhecida a muito tempo e é medida desde 1928 (SCHMID-WENDTNER; KORTING, 2006). Desde então várias técnicas de medição do pH da superfície cutânea foram sendo desenvolvidas e contribuíram com o nosso entendimento de como o valor do pH da superfície da pele pode influenciar nas suas propriedades de barreira e ser um índice importante para avaliar a sua saúde (DU PLESSIS *et al.*, 2018). O valor do pH da superfície da pele é moderadamente ácido, e de acordo com a literatura é descrita uma ampla faixa que varia de pH 4,0 a 7,0 (LAMBERS *et al.*, 2006). O valor do pH da pele varia conforme a idade, local do corpo, condição da pele e há uma pequena variabilidade entre grupos étnicos. O pH da superfície da pele é medido no EC, local que contém várias substâncias de caráter ácido, como aminoácidos, ácido láctico e ácidos graxos, além de vários outros compostos que formam o manto ácido (NAGASHIMA *et al.*, 2015). Entre suas funções, o manto ácido da pele ajuda a manter a integridade e a coesão do EC, mantém o equilíbrio da flora microbiana e desempenha um importante papel na regulação da homeostase da barreira cutânea (STEFANIAK *et al.*, 2013). O método mais utilizado para medir o pH da superfície da pele é um eletrodo plano de vidro conectado a um medidor de tensão. O Skin-pH-Meter® (Courage & Khazaka, Alemanha) é o equipamento mais utilizado no mundo que emprega essa metodologia (STEFANIAK *et al.*, 2013).

Os lipídios presentes na epiderme cutânea representam a última fronteira entre o organismo e o seu ambiente. Esses lipídios desempenham um papel fundamental ao limitar a perda de água transepidérmica e dificultar a agressão e penetração de agentes externos (FURUICHI et al., 2010). Medir as alterações nos níveis desses lipídeos pode ser de extrema importância para estudar a fisiopatologia de diversas doenças e condições da pele. Essa avaliação é utilizada desde pesquisas básicas na área da dermatologia como também suporte para testes de eficácia de dermocosméticos e outros produtos de uso tópico. Essa avaliação também é possível pela bionengenharia cutânea (análise biofísica). A sonda Sebumeter® (Courage & Khazaka, Alemanha) é um dos equipamentos comumente empregado para avaliar essa variação e teor do sebo cutâneo. O método se baseia na quantificação direta da secreção sebácea por análise fotométrica da marca de gordura que é coletada por uma fita plástica translúcida contida dentro do cassete do Sebumeter®. Essa marca altera a coloração da fita (branca), tornando-a translúcida, e o resultado é obtido pela diferença do valor da transmitância da luz – antes e após a impregnação do sebo. Os resultados são expressos em microgramas de sebo por centímetro quadrado de pele ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) (PANDE; MISRI, 2005).

Figura 10 - Sonda para determinação do sebo cutâneo (Sebumeter®).



Fonte: adaptado de Alexander *et al.*, 2018.

Um outro parâmetro biofísico que pode ser citado é medição da cor da pele, na qual a pigmentação varia de escura a muita clara nos seres humanos. Ela é determinada por vários fatores contribuintes como a melanina, hemoglobina, nível de oxigenação sanguínea, hormônios e cromóforos (YAMAGUCHI; BRENNER;

HEARING, 2007). A quantificação da pigmentação da pele tem sido objeto de estudo de longa data nas ciências médicas. As alterações na cor da pele fornecem informações importantes para determinar as características da doença e da eficácia terapêutica. Também é indispensável em testes de eficácia de produtos cosméticos e farmacêuticos, em especial em produtos despigmentantes, protetores solares e calmantes da pele (COURAGE; KHAZAKA, 2020).

Atualmente, não existem sistemas de classificação padrão em uso na avaliação da cor da pele. Existem vários métodos disponíveis para a avaliação da cor da pele. No entanto, a avaliação visual continua sendo um dos padrões-ouro (TREESIRICHOD; CHANSAKULPORN; WATTANAPAN, 2014). A medição da cor da pele pode ser realizada com dispositivos não invasivos denominados colorímetros e espectrofotômetros. Esses dispositivos colorimétricos podem quantificar a cor da pele, eritema e bronzeamento em vários tipos de pele.

O Mexameter[®] é uma ferramenta rápida e fácil para medir, por espectrofotometria de refletância, os dois principais componentes da cor da pele: melanina e hemoglobina (eritema). Tem sido usado principalmente para pesquisas cosméticas, mas recentemente também tem sido usado para avaliar distúrbios hiperpigmentantes como o melasma. Este instrumento utiliza os princípios de absorção e reflexão da emissão de luz (verde; 568 nm, vermelho; 660 nm, infravermelho; 880 nm) e um receptor para medir a luz refletida pela pele. A melanina é medida pelos comprimentos de onda de 660 e 880 nm, enquanto o eritema é medido pelos comprimentos de onda de 568 e 660 nm. Os resultados da medição dos índices E e M variaram de 0 a 999 (0 corresponde a pele branca, 999 corresponde a pele negra). A precisão declarada deste dispositivo é de 65%, e geralmente é feita uma média de 3 leituras para cada medição (TREESIRICHOD; CHANSAKULPORN; WATTANAPAN, 2014).

As propriedades mecânicas da pele são de grande importância fisiológica e tem como função proteger suas estruturas subjacentes. Suas propriedades são devidas à espessura e às propriedades qualitativas da epiderme, derme e tecido subcutâneo. O Cutometer[®] é uma ferramenta reconhecida como padrão para avaliar a elasticidade e outras propriedades mecânicas utilizando o método de sucção. A sonda do Cutometer[®] realiza uma sucção da pele por um orifício e examina a taxa dessa deformação (plástica e elástica). Os valores são expressos

na forma de gráficos da distensão e retração da pele que relacionam parâmetros associados à elasticidade cutânea (OHSIMA *et al.*, 2012). É utilizado para realizar diagnóstico clínico, monitorar doenças dermatológicas e é um parâmetro essencial na avaliação da eficácia de formulações dermocosméticas, como produtos com alegação de anti-idade, melhora da firmeza e elasticidade e ainda anticelulite. É também útil em casos de queimaduras, uma vez que permite avaliar o processo de cicatrização (BUSCHE *et al.*, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo desse trabalho foi desenvolver, caracterizar e avaliar a eficácia clínica de formulação semissólida emulsiva de uso tópico, contendo ingredientes naturais e sustentáveis, para uso como veículo alternativo em preparações magistrais.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar emulsões cosméticas contendo ingredientes naturais;
- Caracterizar as formulações por meio das propriedades físico-químicas, reológicas, valor de pH e distribuição granulométrica;
- Avaliar a eficácia do sistema conservante e estabilidade microbiana pelo teste desafio (*Challenge test*);
- Avaliar a atividade *in vivo* da formulação mais estável por bioengenharia cutânea;
- Realizar estudos de estabilidade preliminar e acelerada das formulações.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Matérias-Primas

As matérias-primas foram descritas de acordo com o nome comercial, químico e INCI (*International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*) e encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 – Descritivo das matérias-primas utilizadas nas formulações com a denominação comercial, química, INCI, função, fornecedor e fase de adição, sendo A) aquosa, B) oleosa e C e D) complementar das emulsões.

Nome comercial	Nome químico	Denominação INCI	Função	Fornecedor	Fase
Água purificada	Água purificada	Water/aqua	Veículo	Magistral Pharmacia	A
EDTA Dissódico	EDTA Dissódico	Disodium EDTA	Agente quelante	Embacaps	A
Glicerina Vegetal	Glicerina	Glycerin	Umectante	Embacaps	A
Nipagin™ M	Metilparabeno	Methylparaben	Conservante	Pharmaspecial	A
Zemea®	Propanediol	Propanediol	Umectante	Sarfam	A
Keltrol® CG-SFT	Goma Xantana	Xanthan Gum	Modificador de reologia	Biovital	A
Vitamina E Oleosa	Tocoferol	Tocopherol	Antioxidante	Embacaps	B
Cetiol® Ultimate	Undecano e Tridecano	Undecane (and) Tridecane	Emoliente	Embacaps	B
Eumulgin® SG	Estearoil Glutamato de Sódio	Sodium Stearoyl Glutamate	Cera autoemulsionant e aniônico O/A	Embacaps	A/B
Olivem® 1000	Olivato cetearílico e Olivato de sorbitano	Cetearyl Oliviate (and) Sorbitan Oliviate	Cera autoemulsionant e não-iônica O/A	Biovital	B
Emulium® Kappa MB	Candelilha/Jojoba/Ésteres de Poliglicerilo-3 de farelo de arroz, Estearato de Glicerilo, álcool de Cetearil e Ésteres, e Latilatos de Estearoil de Sódio	Candelilla/Jojoba/Ric e Bran Polyglyceryl-3 Esters (and) Glycerol Stearate (and) Cetearyl Alcohol (and) Sodium Stearoyl Lactylate	Cera autoemulsionant e aniônica O/A	I9-Magistral	B
Emulgade® PL 68/50	Glucosídeo Cetearílico e álcool cetearílico	Cetearyl Glucoside (and) Cetearyl Alcohol	Cera autoemulsionant e não-iônica O/A	Embacaps	B
Polawax™ NF	Cera Emulsificante NF	Emulsifyng Wax NF	Cera autoemulsionant e não-iônica O/A	Pharmaspecial	B
Álcool cetoeestearílico 30/70	Álcool cetoeestearílico	Cetearyl Alcohol	Agente doador de consistência	Infinity Pharma	B

Percentual (% p/p)											
	Nome comercial	FB 1	FB 2	FB 3	FB 4	FB 5	FB 6	FB 7	FB 8	FB 9	PW
	Fenoxietanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5
Fase D	Gluconolactona	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-

Fonte: o próprio autor.

4.1.2 Equipamentos e Acessórios

- a) Agitador mecânico Fisatom 713D
- b) Agitador magnético com aquecimento (IKA®)
- c) Balança semi-analítica (Gehaka® BG 440)
- d) Centrífuga Baby® (Fanem®)
- e) Microscópico óptico
- f) Multi Probe Adaptader 9 (MPA 9) (Courage-Khazaka, Alemanha): sondas Tewameter® 300 e Corneometer® CM 825
- g) pHmetro Gehaka PG 180
- h) Reômetro modular HAAKE™ MARS™ II (Thermo Scientific™)
- i) Sonda para avaliar a hidratação da pele Corneometer® CM 825 (Courage-Khazaka, Alemanha);
- j) Sonda para avaliar a perda de água transepidérmica Tewameter® TM 300 (Courage-Khazaka, Alemanha);
- k) Vortex Lab Dancer (IKA®)

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Desenvolvimento das Formulações

Foram elaboradas 9 formulações preliminares, do tipo O/A utilizando apenas ingredientes validados pelo órgão ECOCERT, de forma que todas possam cumprir os requisitos para serem certificadas como “cosmético natural. A seleção das matérias-primas para o estudo foi realizada de acordo com critérios do formulador, tendo como base tendências mercadológicas e estudos na literatura científica e técnica para assegurar a compatibilidade entre os componentes e obter emulsões

macroscopicamente estáveis, de viscosidade elevada e com sensorial agradável ao toque. O tipo da base autoemulsionante não-iônica com ou sem a adição de um coemulsionante aniônico foi usado como variáveis do processo de desenvolvimento das formulações. As bases autoemulsionantes selecionadas foram o Olivem[®] 1000 (*Cetearyl Oliviate, Sorbitan Oliviate*), Emulgade[®] PL 68/50 (*Cetearyl Glucoside, Cetearyl Alcohol*) e o Emulium[®] Kappa 2 (*Candelilla/Jojoba/Rice Bran Polyglyceryl-3 Esters, Glyceryl Stearate, Cetearyl Alcohol, Sodium Stearoyl Lactylate*). O coemulsionante de escolha foi o Eumulgin[®] SG (*Sodium Stearoyl Glutamate*).

As formulações foram preparadas aquecendo separadamente a fase aquosa (A) e a fase oleosa (B) até a temperatura de 80 °C utilizando plataforma de aquecimento (IKA[®] RH Basic 2). A fase oleosa foi vertida aos poucos sobre a fase aquosa, mantendo a temperatura de 80° C, sob agitação constante na velocidade de 2.500 rpm por 3 minutos por meio do agitador mecânico (Fisatom[®] 713D), com elemento dispersor (haste) do tipo centrífuga. Após a agitação foi reduzida a 800 rpm até atingir a temperatura de 40 °C. Posteriormente, foi adicionado os conservantes Sharomix[®] 706Á (*Dehydroacetic Acid, Benzoic Acid, Benzyl Alcohol*) (C) e a gluconolactona (D) mantendo a agitação de 800 rpm até atingir a temperatura de 30° C. As formulações foram vedadas e armazenadas em potes boca larga de polipropileno, com capacidade de 1000mL, por 48 horas antes de serem submetidas aos testes subsequentes.

4.2.2 Testes Preliminares de Estabilidade

A estabilidade preliminar por meio das características organolépticas foi realizada com as 9 formulações desenvolvidas. Posteriormente, realizou-se todos os testes preliminares de estabilidade com as formulações que apresentaram melhores características físicas.

4.2.2.1 Avaliação das características organolépticas

A inspeção visual das formulações foi realizada em triplicata, colocando 20 gramas das respectivas emulsões em béqueres com capacidade de 50 mL e fechados com plástico filme. Após serem mantidas em repouso por 48 horas em

temperatura ambiente controlada ($22 \pm 5^\circ\text{C}$), foram observadas quanto às seguintes modificações: cor, odor, homogeneidade e sinais de instabilidade como cremeação e separação de fases (BRASIL, 2004).

Seguiu-se a nomenclatura da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004), sendo:

N = normal, sem alteração;

LM = levemente modificada, presença de cremeado;

M = modificada, intenso cremeado ou discreta separação de fases;

IM = intensamente modificada, intensa separação de fases.

4.2.2.2 Teste de centrifugação

Foram pesados cinco gramas de cada amostra das formulações selecionadas, em triplicada e submetidas à centrifugação (Centrífuga Baby I Fanem 206-BL, São Paulo, Brasil) a 3200 rpm por 30 min em temperatura ambiente, para detectar visíveis modificações ou instabilidades como separação de fases, formação de sedimento compacto (*caking*) e coalescência. Neste teste o produto deve permanecer estável e sem sinal de instabilidade, caso contrário é necessária a reformulação (BRASIL, 2004).

4.2.2.3 Teste de estresse térmico por ciclo de congelamento e descongelamento

Foram pesados 20 g de amostra das formulações e acondicionadas em potes de boca larga de polipropileno ocupando cerca 2/3 do volume total do pote (30 mL) para monitoramento de possíveis trocas gasosas. As amostras, em triplicata, foram submetidas a $4^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas e a $45^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas, completando assim o 1 ciclo. Foram observados e registrados possíveis sinais de instabilidade antes do início do primeiro ciclo e no final do sexto ciclo (12 dias) (BRASIL, 2004).

4.2.3 Caracterização das Formulações

4.2.3.1 Determinação do tipo de emulsão

Para verificar se o tipo da emulsão era O/A ou A/O das formulações preliminares foi realizado um teste de dispersão em duas fases, em triplicata. Na primeira fase foram pesadas cerca de 1g das formulações em tubos do tipo falcon (15 mL) contendo 9,0 mL de água purificada (25 ± 2 °C). Na segunda fase foi repetido o mesmo procedimento trocando-se a água purificada pelo óleo mineral. Em seguida as amostras foram homogeneizadas por meio de um homogeneizador do tipo Vórtex (IKA®) e o aspecto final da dispersão foi observado macroscopicamente (DAVIS, 1977).

4.2.3.2 Análise reológica de fluxo contínuo

O estudo do comportamento reológico foi realizado pelo método de fluxo contínuo como forma de caracterizar e avaliar a pré-estabilidade física das emulsões. As propriedades de fluxo além de influenciar na liberação dos ingredientes ativos devido suas propriedades físicas, também interferem nas características sensoriais, crucial para aceitação do consumidor (JAKSIC *et al.*, 2012).

As medições do fluxo contínuo das formulações preliminares foram determinadas utilizando um reômetro modular de gradiente e tensão de cisalhamento controlado HAAKE™ MARS™ II (Thermo Scientific™) no modo de fluxo contínuo nas temperaturas de 25° e 37 °C $\pm 0,1$ °C utilizando geometria do tipo cone-placa paralelas de 35 mm de diâmetro. Foi realizado em triplicata inserindo cerca de 2g de amostra na placa inferior, gerando o mínimo de cisalhamento da formulação e permitindo um tempo de repouso de 1 minuto para garantir um relaxamento da tensão gerada antes da análise. As leituras foram feitas nos tempos 0 e 15 dias subsequente ao teste de estresse térmico por ciclo de congelamento e descongelamento. As amostras armazenadas a 45 °C e 5°C foram deixadas à temperatura ambiente (± 25 °C) por 48 horas antes da leitura. A escolha da faixa de gradiente de cisalhamento, 0 a 2000 s⁻¹, se deu a partir de testes prévios realizadas no próprio equipamento e determinada com base na resistência da formulação ao seu rompimento. dos valores das curvas de fluxo ascendente e descendentes foi possível determinar a viscosidade aparente,

índice de consistência (k) e o índice de fluxo (n) de acordo com a lei da potência (equação de Ostwald de Waele).

$$\sigma = \kappa \cdot \dot{\gamma}^n$$

Onde, σ = tensão de cisalhamento (D/cm²), $\dot{\gamma}$ = gradiente de cisalhamento (1/Sec), k = índice de consistência, n = índice de fluxo

Os reogramas obtidos também foram matematicamente analisados pelas equações de Herschel-Bulkley e de Casson pelo *software* RheoWin 4.10.0000 (HAAKE™ MARS™ II) conforme as equações abaixo.

Herschel-Bulkley

$$\sigma = \sigma_0 + \kappa \cdot \dot{\gamma}^n$$

Casson

$$\sqrt{\sigma} = \sqrt{\sigma_0} + \sqrt{\kappa \dot{\gamma}}$$

4.2.3.3 Análise granulométrica

As formulações estáveis foram submetidas à análise de distribuição de tamanho das partículas realizada através de captura de 10 imagens utilizando uma câmera digital Carl Zeiss DCM510 acoplada a um microscópio óptico. A quantificação foi feita utilizando o software de análise Image Pro Plus 4.

Amostras foram colocadas em lâmina de vidro e submetidas a captura de imagens para realizar a distribuição do tamanho das partículas, usando como parâmetro de mediação o diâmetro segundo *Feret*. Para determinação do tamanho e distribuição foram medidas 1200 partículas. Todas as medições foram feitas na mesma direção, independentemente da orientação das partículas (BRUSCHI *et al.*, 2003).

4.2.4 Testes de Estabilidade Acelerada (TEA)

As formulações consideradas estáveis após passarem pelos testes preliminares de estabilidade foram submetidos ao estudo de estabilidade acelerada. Aproximadamente 40,0 g foram pesados e acondicionados em potes de polipropileno de boca larga com capacidade de 60 mL, de maneira a ocupar 2/3 do volume total do pote para avaliação de possíveis trocas gasosas. Este estudo é também chamado de teste de estabilidade normal e tem como objetivo gerar informações para conseguir prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento (BRASIL, 2004). Para cada amostra foram realizadas as análises em triplicada nas diferentes condições de armazenamento. As amostras acondicionadas sob refrigeração ($5,0 \pm 2^\circ\text{C}$) foram tomadas como referência (padrão) nesse teste para efeitos comparativos. As análises foram realizadas à temperatura ambiente ($22,0 \pm 3,0^\circ\text{C}$) (BRASIL, 2004).

As amostras foram submetidas à três temperaturas, $22,0 \pm 3,0^\circ\text{C}$, $5,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ e $40,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ durante 90 dias, sendo analisadas no 1º, 30º, 60º e 90º dia, avaliando os seguintes parâmetros:

- Características organolépticas (aspecto, cor e odor);
- Características físico-químicas (valor de pH);
- Características físicas (variação do tamanho médio de partícula).

4.2.4.1 Análise macroscópica

Foram observadas visualmente as características organolépticas e a homogeneidade das formulações para identificar possíveis sinais de instabilidade tais como alteração cor, odor, homogeneidade, cremeação, separação de fases e alteração de consistência (BRASIL, 2004).

4.2.4.2 Determinação do pH

Os valores de pH foram obtidos inserindo o eletrodo diretamente nas amostras em seus recipientes originais. As amostras armazenadas no refrigerador ($5 \pm 2^\circ\text{C}$) e na estufa ($40 \pm 2^\circ\text{C}$) foram retiradas da temperatura a que estavam

submetidas e permaneceram sobre a bancada por cerca de 30 minutos até atingir a temperatura ambiente do laboratório ($22 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$) para realização das medidas.

A porcentagem de variação do pH foi calculada da seguinte maneira:

$$pH = \frac{(pH_f - pH_i) \times 100}{pH_i}$$

Onde:

pHi= valor de pH em To (inicial), pHf = valor de pH final e To = 48 horas após manipulação

4.2.4.3 Análise do tamanho médio de partícula

Foi utilizada a técnica de microscopia quantitativa para determinar o tamanho médio de partícula conforme item 4.2.3.3 (Análise granulométrica). Foi calculada a média e desvio padrão de 1200 medições de cada amostra durante os tempos 0, 30, 60 e 90 dias.

4.2.5 Teste Desafio do Sistema Conservante (*Challenge Test*)

Este ensaio foi realizado de forma terceirizada pelo laboratório acreditado Elementum (Elementum Laboratório de Controle de Qualidade Ltda) de acordo com a preconização da farmacopeia brasileira (FARMACOPEIA, 2019), em duplicata com a formulação selecionada. Os microrganismos utilizados na realização do teste de desafio estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Microrganismos utilizados no Teste desafio do sistema conservante (*Challenge Test*) (FARMACOPEIA, 2019).

Microrganismos	Nomeclatura binominal
Bactérias	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)
	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)
Levedura	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)
Fungo	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (ATCC 16404)

Fonte: o próprio autor.

Antes de iniciar o teste desafio verificou-se a eficiência da solução neutralizante. A validação do neutralizante é de extrema importância no teste de desafio do sistema conservante (*Challenge Test*), uma vez que é necessário garantir a neutralização do seu efeito conservante de modo a recuperar os microrganismos viáveis. Se o conservante continuar agindo no momento da análise pode gerar erros de leitura e até mesmo ausência de crescimento nas placas de contagem gerando resultados imprecisos (GUIA DE MICROBIOLOGIA, 2015).

Realizou-se três testes, utilizando como meio para bactérias ágar soja tripticaseína (TSA) a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 3 a 5 dias e para fungo o meio ágar *sabouraud* dextrose (SAB) a $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ de 3 a 7 dias e para levedura a $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ de 3 a 5 dias. Os três testes foram realizados em duplicata.

Para a verificação da eficácia do sistema conservante as culturas dos microrganismos em questão foram cultivadas em tubos de ensaio contendo os meios líquidos específicos *TSA* e *SAB*. Partindo das cepas de trabalho em meio de cultura inclinado realizou-se a padronização individual de cada cepa, seguida da formação de novas suspensões em meios líquidos estéreis. Em embalagens adequadas e esterilizadas, foram transferidos 20 gramas da formulação selecionada para 5 frascos de 150 mL com tampa, previamente esterilizados utilizando 1 frasco para cada um dos 5 microrganismos teste. Cada frasco foi inoculado com 1% em volume de um dos inóculos padronizados e, em seguida, homogêneos. Os microrganismos foram adicionados aos produtos de tal modo que a concentração final do inóculo no produto variasse de 1×10^5 até 1×10^6 UFC/mL. Logo após a inoculação da cepa específica

na amostra realizou-se também a contagem da carga microbiana referente ao inóculo (microrganismo) no tempo 0 e no 7º dia.

Na sequência pesou-se 1 g das amostras inoculadas em frasco estéril, contendo 9 mL de solução neutralizante, realizou-se diluições até a concentração de 10^2 UFC/mL e, em seguida, plaqueou-se 1 mL de cada diluição em TSA e SAB pelo método “Pour Plate”. Em seguida incubou-se as placas forma incubadas nas respectivas temperaturas dos microrganismos teste por 48 horas para bactérias e por 3 a 7 dias para fungos e leveduras.

Após o teste os frascos com as amostras inoculadas foram armazenados em estufa microprocessada a $22,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$. Realizou-se o mesmo processo de contagem para os tempos 7, 14 e 28 dias. No tempo 7º dia efetuou-se reinoculação dos microrganismos padronizados: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Na análise dos resultados, para formulações de uso tópico (categoria 2 de produtos), deve haver redução de 2 logs do nº de UFC inicialmente inoculados após 14 dias seguido de nenhum aumento da contagem no período de 15 a 28 dias no caso das bactérias. Para as leveduras e fungos os resultados não devem indicar nenhum aumento da contagem inicial após o período compreendido entre 14 a 28 dias (BRASIL, 2019).

4.2.6 Avaliação dos efeitos das formulações na pele humana por bioengenharia cutânea

4.2.6.1 Triagem das voluntárias

Após a aprovação pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá – UEM (ANEXO I), 26 voluntárias, de 20 a 44 anos, de fototipo entre I a VI (escala de Fitzpatrick, 1975) foram selecionadas e divididas aleatoriamente em dois grupos de tratamento, sendo 13 mulheres do grupo PW (grupo controle) que utilizou exclusivamente um veículo de uso tópico convencional a base da cera Polawax® e o grupo FB (grupo experimental) que utilizou a formulação elaborada do estudo. As voluntárias foram orientadas sobre os objetivos e métodos da pesquisa e, concordando em participar da mesma,

assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (CEP/ UEM – Protocolo nº 2.968.234). O Estudo foi conduzido no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.

4.2.6.2 Critérios de inclusão e exclusão

As participantes foram selecionadas pelo critério de inclusão, sendo adultos saudáveis, do sexo feminino, com idade entre 20 e 44 anos, abrangendo todos os fototipos de pele (I a VI), de acordo, com a escala de Fitzpatrick (1975), que trabalhavam ou estudavam na Universidade Estadual de Maringá (UEM). As voluntárias forneceram seu consentimento livre e esclarecido por escrito (modelo anexo I), após informação para participação voluntária no estudo. Todas as voluntárias estavam cientes que não poderiam usar quaisquer dermocosméticos ou terapia tópica nos locais da medição (antebraços) por no mínimo 10 dias, como também não terem realizado quaisquer procedimentos estéticos e dermatológicos que poderiam interferir na pesquisa e não apresentar hipersensibilidade cutânea ou alergia aos componentes da formulação. As voluntárias receberam informação (oral e escrita) sobre todas as metodologias a serem utilizadas durante a pesquisa. As voluntárias selecionadas foram previamente examinadas pela coordenadora deste estudo, que tem conhecimento na área de cosmetologia para avaliar qualquer dano na pele.

Foram excluídos da amostragem voluntárias gestantes ou com suspeita de gravidez, lactantes, portadores de doenças crônicas, sistêmica ou de pele, sob tratamento hormonal ou com antibióticos, com histórico ou sinais de dermatopatologias, hipersensibilidade previamente conhecida de algum componente das formulações ou que durante o período da avaliação apresentem sinais ou sintomas de irritação ou de dermatite de contato. A voluntária poderia desistir a qualquer momento do período do estudo, sem que isto acarretasse qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Poderiam também ser excluídas as voluntárias que relatassem não fazer o uso do produto corretamente.

4.2.6.3 Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo

Foi utilizado para a avaliação do nível da hidratação cutânea a sonda Corneometer® CM 820 (Courage-Khazaka, Alemanha), que utiliza o princípio da capacitância elétrica. O EC seco é um meio dielétrico, suas propriedades dielétricas se alteram com a mudança no conteúdo de umidade. O capacitor do Corneometer® CM 820 quando colocado entre a base da sonda e a pele mede a mudança da constante dielétrica devido as alterações da quantidade de água da superfície da pele. O resultado é expresso em Unidades Arbitrárias (UA) e estima-se que 1 UA corresponda a 0,2 - 0,9mg de água por grama de estrato córneo. (DU PLESSIS *et al.*, 2013).

4.2.6.4 Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL)

A medição da TEWL é uma ferramenta importante para avaliar a função de barreira da pele, uma vez que um aumento da taxa de evaporação de água transepidérmica pode significar uma disfunção da barreira cutânea (LOGGER *et al.*, 2019). Para avaliar a perda de água transepidérmica, foi utilizado a sonda Tewameter® que avalia a taxa de água que se evapora à superfície da pele, baseado no princípio de difusão proposto por Adolf Fick. Os valores são expressos em g/m².h.

4.2.6.5 Avaliação dos efeitos das formulações a curto prazo

Neste estudo avaliou-se a diferença em dois parâmetros de barreira cutânea (perda transepidérmica de água e hidratação do EC) na aplicação da formulação FB selecionada e PW durante 28 dias. Foi escolhido a região volar do antebraço por ser considerado representativo da face para medir a hidratação do EC e outras propriedades biomecânicas, sendo assim, relevante para a avaliação da eficácia de produtos cosméticos destinados ao uso facial (BAZIN; FANCHON, 2006). As voluntárias aplicaram uma quantidade padronizada das formulações, equivalente a 1,0 mL (pelo acionamento total da válvula da embalagem que fornece esse volume nominal), na região instruída (área proximal do antebraço esquerdo) com movimentos circulares durante 15 segundos. A região proximal do antebraço foi escolhida para a aplicação por sofrer menor interferência dos surfactantes ao se lavar as mãos.

As medições foram efetuadas nos tempos 0 (valor basal) e 28 dias após autoaplicação diária (2 vezes ao dia) das formulações (FB1 ou PW). Duas áreas de medições foram definidas em cada antebraço dos participantes, sendo na região proximal da parte volar do antebraço direito (controle) e do antebraço esquerdo (tratamento). As medições foram realizadas após 20 minutos de aclimatação às condições controladas de temperatura (22 a 24 ± 2 °C) e umidade (40 a $60 \pm 5\%$).

Para a avaliação da TEWL e da hidratação do EC foram realizadas 6 medições em cada região dos antebraços, sendo calculado a média dos valores obtidos. Durante todo o tempo do estudo, as participantes não utilizaram quaisquer produtos cosméticos ou serem submetidos a procedimentos dermatológicos que pudessem interferir nos resultados. Todas as participantes utilizaram o mesmo sabonete líquido para limpeza corporal a fim de minimizar a interferência que diferentes tipos de detergentes provocam na pele.

4.2.7 Análise Estatística

Os resultados das medidas reológicas e do estudo clínico foram expressos como a média \pm desvio padrão e foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), com nível de significância estabelecido em $p < 0,05$. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

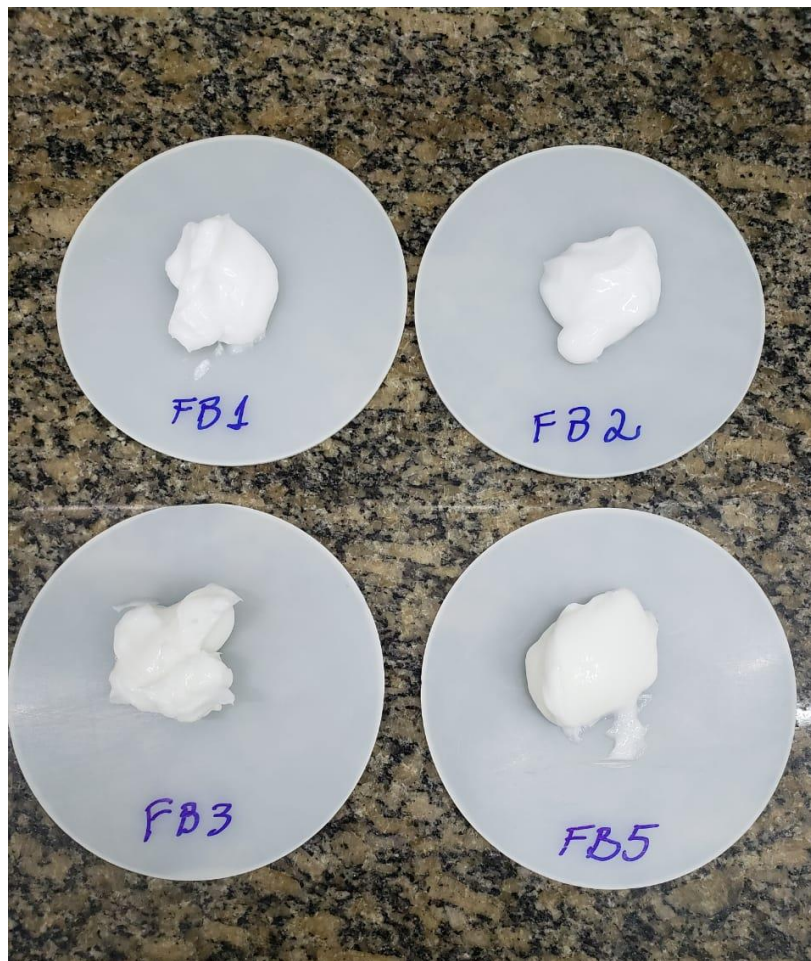
Antes de iniciar o desenvolvimento de uma formulação dermocosmética é de extrema importância definir claramente a finalidade do produto. Dependendo da finalidade, uso dermatológico ou cosmético, os requisitos podem variar significativamente, como aceitação cosmética e compatibilidade dos ingredientes ativos (BOHNENBLUST-WOERTZ; SURBER, 2014).

Os veículos dermatológicos e cosméticos magistrais são geralmente feitos de forma individualizada e escolhidos criteriosamente de acordo com os ingredientes ativos requeridos para garantir eficácia, estabilidade e aceitabilidade do paciente ou consumidor (SURBER; SMITH, 2005).

O desenvolvimento das formulações abrangeu a elaboração de nove emulsões do tipo O/A partindo das ceras: Olivem® 1000 (*Cetearyl Oliviate, Sorbitan Oliviate*), Emulgade® PL 68/50 (*Cetearyl Glucoside, Cetearyl Alcohol*), Emulium® Kappa 2 (*Candelilla/Jojoba/Rice Bran Polyglyceryl-3 Esters, Glyceryl Stearate, Cetearyl Alcohol, Sodium Stearoyl Lactylate*) e Eumulgin® SG (*Sodium Stearoyl Glutamate*). Esses emulsionantes foram escolhidos por vários fatores, como, possuírem certificação ECOCERT, ter disponibilidade no mercado de cosméticos naturais, possuir capacidade de emulsificação, apresentar compatibilidade cutânea devido à similaridade com os fosfolipídios presentes na pele e, também, por possibilitarem a formação de baixo filme residual (SAVIC *et al.*, 2011).

As formulações FB4 e FB6 foram rejeitadas na etapa de desenvolvimento por apresentarem baixa consistência, o que dificulta ou impossibilita a adição de grandes quantidades de adjuvantes e ingredientes ativos sem que sua consistência de creme fosse mantida. As formulações FB7, FB8 e FB9 apresentaram sinais de instabilidade após o preparo como coalescência e cremeação, sendo assim descartadas do estudo. As formulações FB1, FB2, FB3 e FB5 demonstraram desempenho superior quando comparadas com as demais por apresentarem ausência de sinais de instabilidade, perfis de textura e consistência adequadas e, assim, foram selecionadas para proceder com os testes posteriores de estabilidade (Figura 11).

Figura 11 - Emulsões FB1, FB2, FB3 e FB5.



Fonte: o próprio autor.

5.2 TESTES PRELIMINARES DE ESTABILIDADE

As formulações FB1, FB2, FB3 e FB5 foram submetidas aos testes preliminares de estabilidade, realizados na fase inicial de desenvolvimento do produto como forma de auxiliar na escolha das formulações e assegurar a compatibilidade dos ingredientes da formulação (BRASIL, 2004).

5.2.1 Avaliação das Características Organolépticas

As formulações selecionadas foram macroscopicamente analisadas após o período de repouso de 48 horas para que houvesse a finalização do processo

de emulsificação e sua viscosidade aparente máxima fosse atingida (Tabela 6). As características organolépticas foram avaliadas segundo critérios do formulador (em relação a consistência aparente) e conforme a literatura (TADROS, 2006; BRASIL 2004). Nenhuma das amostras selecionadas apresentou alterações visuais do tipo cor, odor e sinais de instabilidade (como separação de fases ou heterogeneidade) após serem armazenadas em temperatura ambiente ($25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$) durante o período de 48h horas sendo, então, conduzidas para o teste de centrifugação.

5.2.2 Teste de centrifugação

O teste de estabilidade tem como finalidade determinar quaisquer sinais de instabilidade – o qual aponta a necessidade de reformulação (BRASIL, 2004). Quando as amostras submetidas à centrifugação não estiverem estáveis haverá tendência de separação de fases, perda de outros parâmetros, como viscosidade aparente e alterações das características organolépticas dos componentes. De acordo com a lei de Stoke, a centrifugação atua na emulsão desestabilizando a fase dispersa, provocando um aumento no número de colisões entre as gotículas e, portanto, acelera esses sinais de instabilidade (ZOGRAFI, 1982).

As formulações selecionadas não apresentaram nenhuma alteração frente ao teste de centrifugação, sendo consideradas estáveis e, portanto, foram submetidas ao teste de estresse térmico por ciclo de congelamento e descongelamento. A tabela 7 mostra os resultados do teste de centrifugação para as formulações FB1, FB2, FB3 e FB5.

Tabela 6 - Características organolépticas (aspecto, cor e odor) das formulações após 48 horas de preparo.

Formulação	Aspecto	Cor	Odor
FB1	Homogênea, consistência aparente elevada	Branca	Característico
FB2	Homogênea, consistência aparente elevada	Branca	Característico
FB3	Homogênea, consistência aparente elevada	Branca	Característico
FB5	Homogênea, consistência aparente elevada	Bege-clara	Característico

Fonte: o próprio autor.

5.2.3 Teste de Estresse Térmico por Ciclo de Congelamento e Descongelamento

O teste de estresse térmico por ciclo de congelamento é usado para acelerar a taxa de desestabilização das emulsões. Neste ensaio as amostras são armazenadas em condições distintas de temperatura, e alternadas em intervalos regulares de tempo. A estrutura final do produto submetido a esse teste depende fortemente das condições de armazenagem (LERCHE; SOBISCH, 2011). Em condições extremas de temperatura, como ciclos de 24 horas em estufas à 40 ± 2 °C e em freezer a -10 ± 2 °C, as alterações em sua estrutura é comum acontecer, e até mesmo prevista. Essas modificações precisam ser cuidadosamente avaliadas e definidas dentro de limites especificados, pois podem não ser motivo para reprovação da amostra (DICKINSON; WIEGAND; THIJSSSEN, 2019).

Os critérios para escolha das condições de armazenamento foi para atingir diversas zonas climáticas em que o produto poderá ser armazenado e por estar entre as faixas de temperatura mais utilizada nesse teste (ANVISA,2004). As amostras foram submetidas a 4 ± 2 °C em 24 horas (Geladeira Consul Facilite CFF 300L) e 40 ± 2 °C em 24 horas (Estufa Ethik série 400) até completarem 6 ciclos (12 dias). As formulações FB1, FB2, FB3 e FB5 (Tabela 7) mantiveram-se estáveis, sem sinais de instabilidade, ou seja, suportando as alterações de temperatura a que foram submetidas.

Tabela 7 - Avaliação Preliminar da Estabilidade (Teste de centrifugação e de estresse térmico).

Formulação	Teste de centrifugação	Teste de estresse térmico
FB1	N	N
FB2	N	N
FB3	N	N
FB5	N	N

Legenda: N= Normal

Fonte: o próprio autor.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

5.3.1 Determinação do tipo de emulsão

Após o preparo final ambos os tipos de emulsões (A/O ou O/A) possuem a mesma aparência a olho nu, sendo necessários certos testes para diferenciá-los e obter uma conclusão final. Nesse estudo, verificou-se que FB1, FB2, FB3 e FB5 apresentam-se como emulsões do tipo O/A, ou seja, sua fase externa é aquosa, uma vez que todas permaneceram homogêneas após a diluição em água purificada e heterogêneas em presença de óleo mineral.

5.3.2 Análise reológica de fluxo contínuo

O conhecimento das propriedades reológicas das emulsões se tornou uma ferramenta fundamental da indústria farmacêutica e cosmética. O comportamento reológico das emulsões influencia as várias etapas do processo do desenvolvimento de um produto, tanto em termos técnicos (fabricação, envase, armazenamento) como estéticos (BRUSCHI *et al.*, 2003). Consequentemente, a capacidade de medir a estrutura e a consistência de uma emulsão pode ser determinante para avaliar, otimizar e até prever o desempenho *in vivo* de uma formulação. As informações obtidas pelas medições reológicas também têm se mostrado úteis para estimar a estabilidade da estrutura de emulsões a longo prazo (ISAAC *et al.*, 2013)

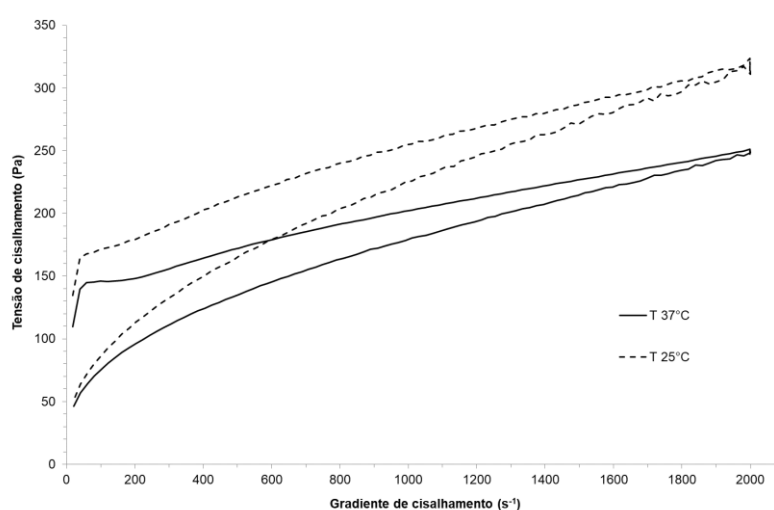
Os emulsionantes influenciam significativamente as características reológicas das emulsões, pois são eles que possibilitam que a emulsão seja formada, além de serem os principais responsáveis pela estabilidade física durante o tempo de armazenamento estabelecido. Considerando ainda que a associação de diferentes emulsionantes é considerado ser mais eficaz na estabilização de emulsões do que utilizar apenas um tipo de emulsionante, pois na associação cada emulsionante pode complementar a ação do outro..

De acordo com os reogramas de fluxo e de viscosidade (Figuras 12 a 19) todas as formulações apresentaram comportamento de fluxo não-newtoniano, com pseudoplasticidade (índice de fluxo <1) e área de histerese (Tabela 9). O

comportamento não-newtoniano implica que a viscosidade dos fluidos muda de acordo com a taxa de cisalhamento, conseqüentemente eles não possuem viscosidade constante (LEE, 2009).

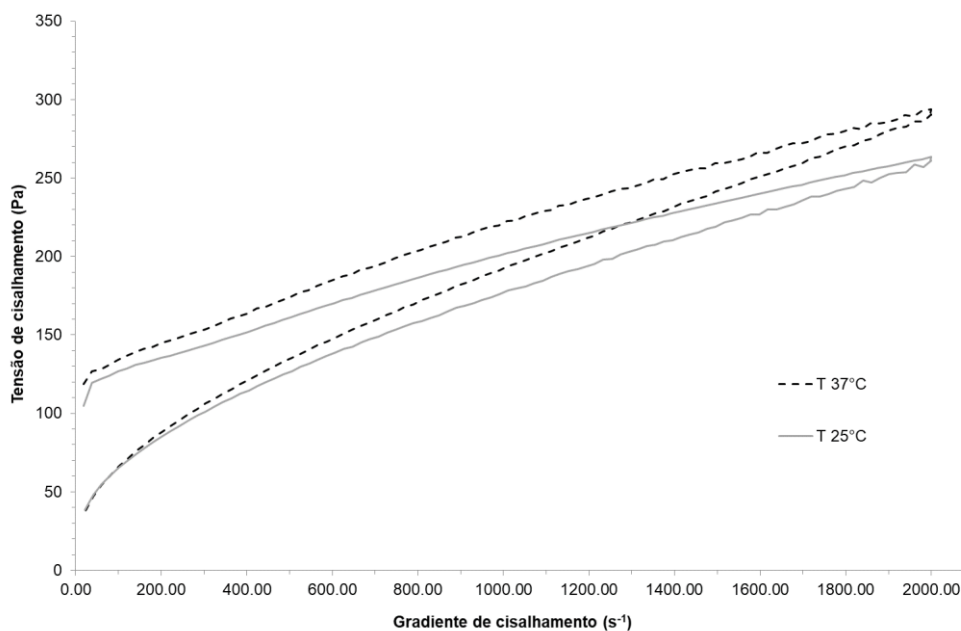
O comportamento pseudoplástico de um material é caracterizado pela diminuição da viscosidade conforme a taxa de cisalhamento aumenta. Esse comportamento é adequado em emulsões cosméticas porque sua viscosidade aparente diminui com o aumento do estresse, tornando o sistema mais fluido e sensível ao escoamento, o que ajuda na aplicação do produto. A pseudoplasticidade é geralmente constatada analisando o valor do índice de fluxo (n). Esse valor é adimensional e pode ser obtido utilizando a equação matemática de Oswald de Waele. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 9 as formulações FB3 e FB5 exibiram os menores valores de índice de fluxo em ambas as temperaturas. Formulações com valores desse parâmetro próximos de “1” indica que o fluido se aproxima do comportamento newtoniano. Enquanto o índice de fluxo de um material é superior a 1, é caracterizado como dilatante (SISKA *et al.*, 2019).

Figura 12 - Reogramas de fluxo da formulação FB1 representados como tensão de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.



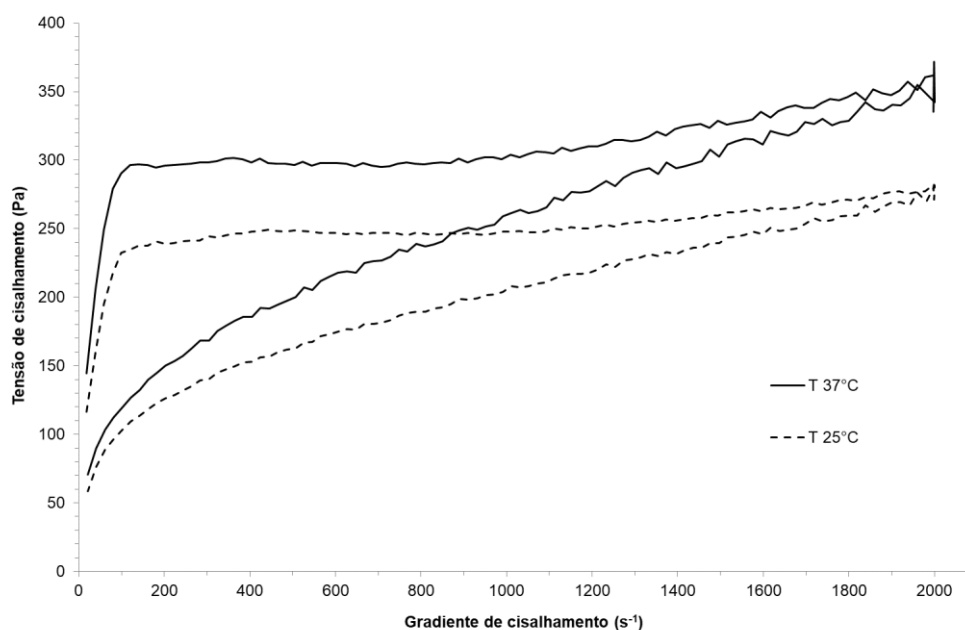
Fonte: o próprio autor.

Figura 13 - Reograma de fluxo da formulação FB2 representadas como tensão de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (—) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.



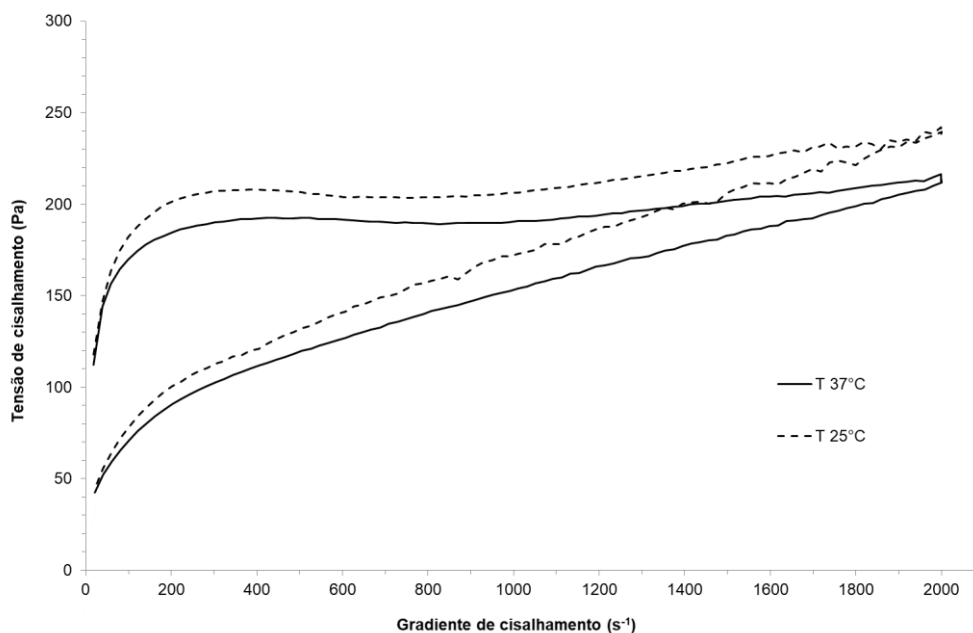
Fonte: o próprio autor.

Figura 14 - Reograma de fluxo da formulação FB3 representadas como tensão de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (—) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.



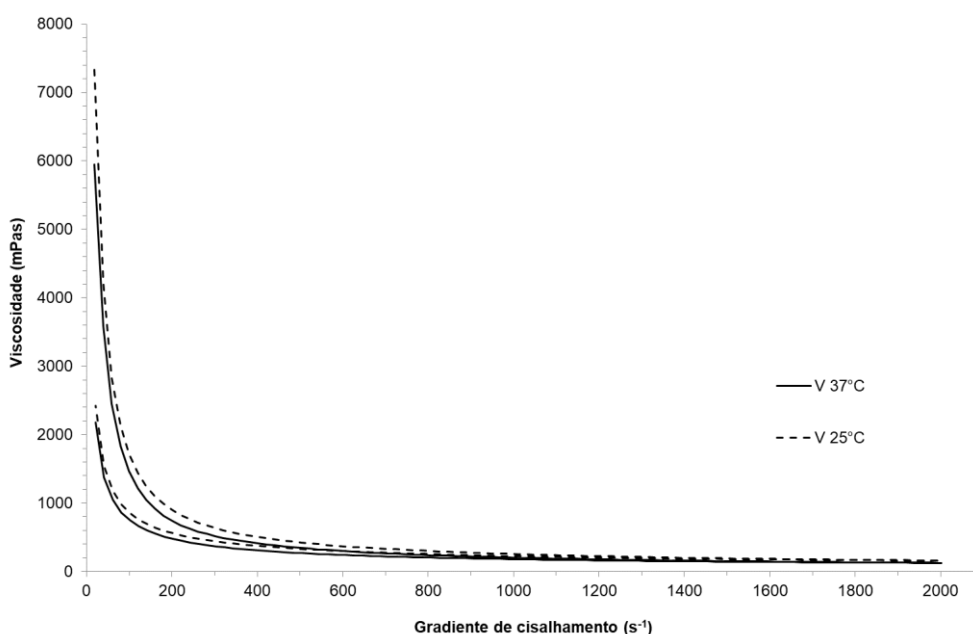
Fonte: o próprio autor.

Figura 15 - Reograma de fluxo da formulação FB5 representada como viscosidade em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (—) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.



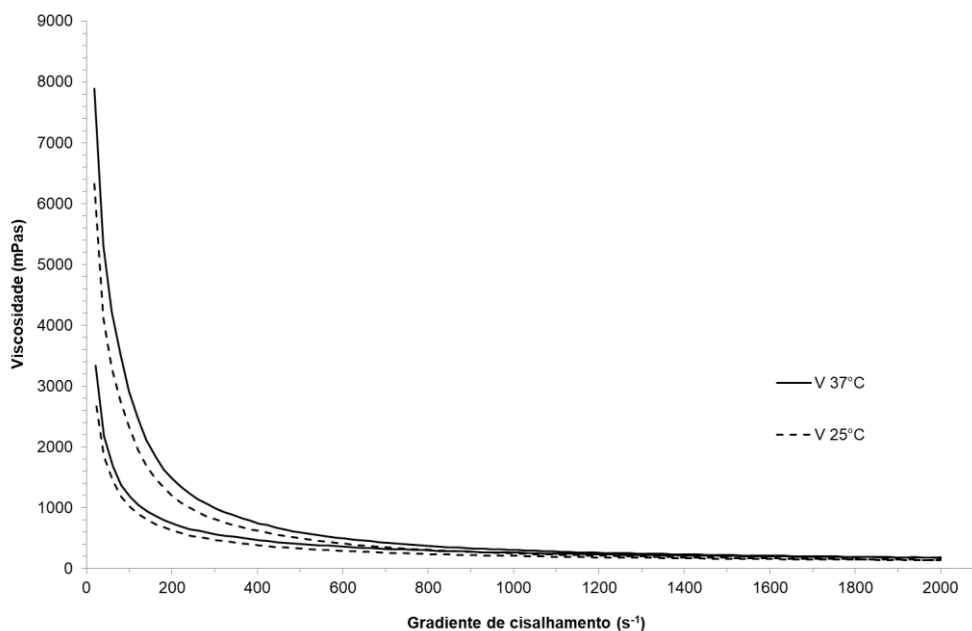
Fonte: o próprio autor.

Figura 16 - Reograma de fluxo da formulação FB5 representadas como tensão de cisalhamento em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (—) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.



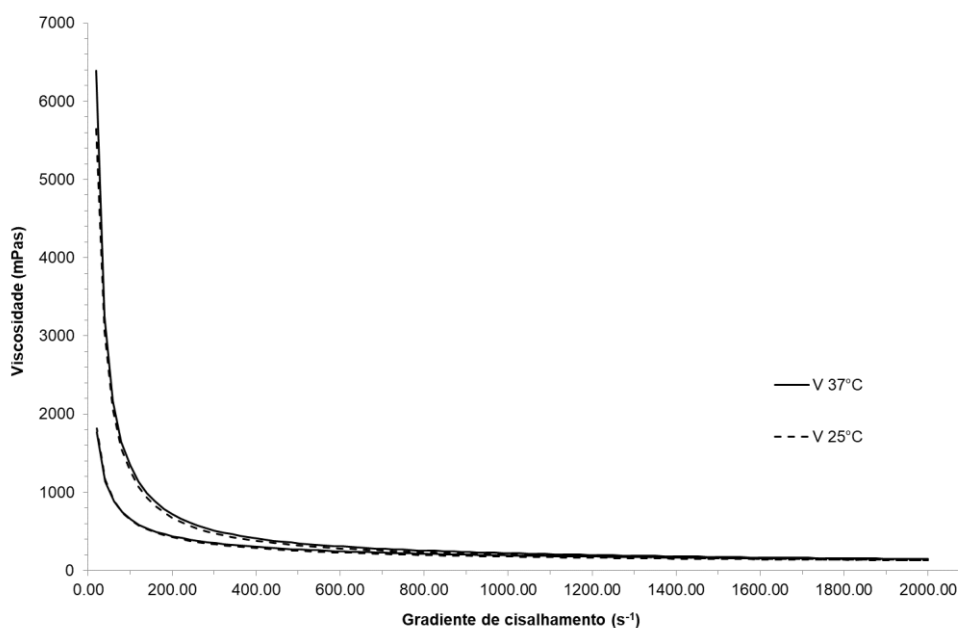
Fonte: o próprio autor.

Figura 17 - Reograma de fluxo da formulação FB2 representada como viscosidade em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (—) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.



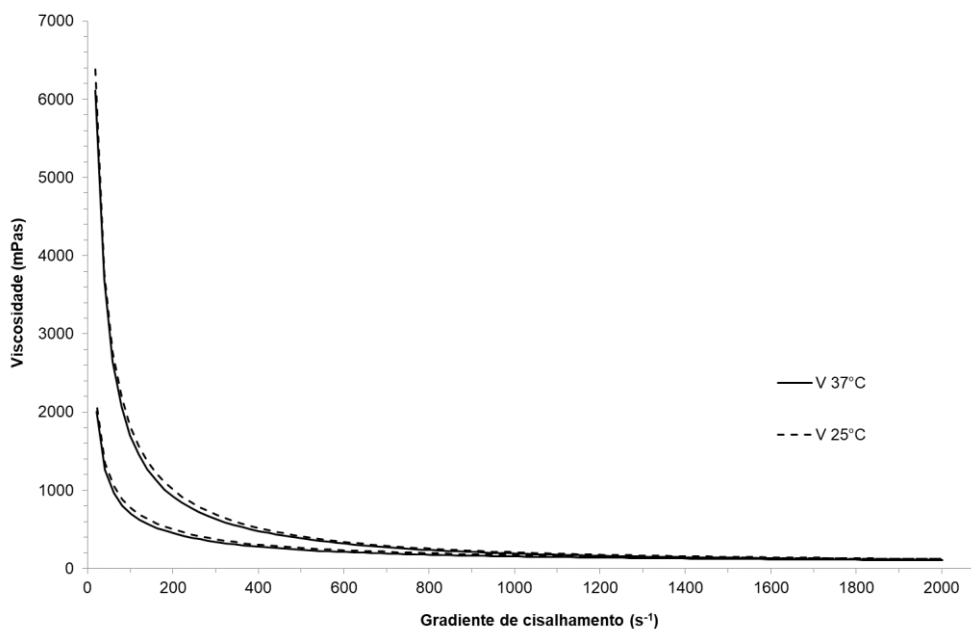
Fonte: o próprio autor.

Figura 18 - Reograma de fluxo da formulação FB3 representada como viscosidade em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (—) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.



Fonte: o próprio autor.

Figura 19 - Reograma de fluxo da formulação FB5 representada como viscosidade em função do gradiente de cisalhamento nas temperaturas 25° C (–) e 37 °C (- -). Cada reograma é a média de 3 replicatas.



Fonte: o próprio autor.

A tixotropia é uma propriedade de alguns fluidos que é caracterizada pela diminuição contínua da viscosidade com o aumento da tensão de cisalhamento aplicada a uma amostra que estava em repouso e recupera sua viscosidade assim que essa tensão é interrompida (LARSON; WEI, 2019). Um fenômeno comumente observado associado à tixotropia é a área de histerese, que consiste na área gerada entre as duas curvas do reograma (tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento). A presença de tixotropia nas formulações é uma característica desejável para produtos de uso tópico, pois promovem uma maior vida útil da formulação – durante o armazenamento a viscosidade é constante, dificultando a separação dos componentes da formulação (ISAAC *et al.* 2013). Além de facilitarem o uso do produto pela deformação sofrida durante a aplicação e escoamento e a recuperação da viscosidade inicial após cessar o cisalhamento, o que evita vazamento do produto.

Considerando as medidas reológicas das formulações nas temperaturas de 25 °C e 37° C após 48 horas após o preparo. De acordo com os reograma (Figuras 12 a 15) todas as amostras apresentaram curvas ascendentes superior a descendente,

caracterizando emulsões com tixotropia moderada (FB1, FB2) a pronunciada (FB3 e FB5).

Tabela 8 - Resultados do índice de consistência (k), índice de fluxo (n), tensão de cedência (τ_0) e área de histerese (Pa/s) nas temperaturas 25 e 37 °C para as formulações FB1,FB2, FB3 e FB5.

Formulação	Temperatura (°C)	K (Pa.s)	Índice de fluxo (n)	Tensão de cedência (τ_0)	Área de histerese (Pa/s)
FB1	25	52,91 ± 0,96	0,2305 ± 0,0029	128,46 ± 3,00	65880 ± 1809
FB1	37	49,78 ± 2,41	0,2064 ± 0,0059	105,33 ± 2,40	52397 ± 2169
FB2	25	28,50 ± 0,7765	0,3006 ± 0,0039	91,12 ± 3,29	61247 ± 642
FB2	37	30,90 ± 1,2009	0,2689 ± 0,0028	85,57 ± 0,75	53170 ± 8495
FB3	25	170,43 ± 15,35	0,0967 ± 0,0076	240,13 ± 16,85	119566 ± 3758
FB3	37	145,30 ± 6,95	0,0816 ± 0,0045	118,20 ± 6,22	101433 ± 1250
FB5	25	81,37 ± 60,74	0,0914 ± 0,0064	160,90 ± 7,21	88026 ± 447
FB5	37	108,33 ± 0,77	0,0868 ± 0,0014	149,30 ± 0,46	88960 ± 490

Fonte: o próprio autor.

A viscosidade está relacionada a várias propriedades das emulsões e depende da faixa de velocidade de cisalhamento. No caso de um creme utilizado como veículo em preparações magistrais ele precisa ter uma alta viscosidade, uma vez que se trata de um produto semiacabado, ao qual serão incorporados adjuvantes e ingredientes ativos (dermatológicos ou cosméticos) em diferentes concentrações (JAKSIC *et al.*, 2012).

A viscosidade aparente das formulações foi determinada selecionando o valor da viscosidade no ponto máximo de cisalhamento (2000 S^{-1}). Na temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ a formulação FB3 mostrou o maior valor de viscosidade aparente ($3334,67 \pm 49,77 \text{ mPa.s}$), a formulação FB1 e FB5 demonstraram valor intermediário ($2425,67 \pm 7,41$ e $2104,67 \pm 11,14 \text{ mPa.s}$ respectivamente) e a formulação FB2 apresentou o menor valor ($1770,33 \pm 8,38 \text{ mPa.s}$) (Tabela 9). Esses resultados foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), demonstrando que o tipo de base autoemulsionante utilizada pode influenciar esse parâmetro. Em adição, foi verificado que a formulação FB3 apresentou bandas de cisalhamento muito irregulares e este comportamento pode estar relacionado com estabilidade físico-química preliminar insatisfatória, assim como características estéticas desagradáveis (WILLENBACHER; GEORGIEVA, 2013).

A formulação FB1 elaborada com a cera Olivem[®] 100 (*Cetearyl Olivatate*, *Sorbitan Olivatate*) com o coemulsionante aniônico Emulgin[®] SG (*Sodium Stearoyl Glutamate*) apresentou uma maior viscosidade aparente em relação a formulação FB2 que não foi adicionada do coemulsionante aniônico Emulgin[®] SG (*Sodium Stearoyl Glutamate*), demonstrando que a associação deste coemulsionante aniônico promoveu além de maior valor de viscosidade aparente, também o aumento de outros parâmetros como índice de consistência (k), tensão de cedência (τ_0) e área de histerese (Pa/s) (Tabela 9).

Tabela 9 - Valores de viscosidade aparente mínimadas formulações na temperatura de 25° C (média de 3 replicadas). Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% - (one-way ANOVA, $p < 0,05$).

Formulação	Viscosidade aparente mínima (mPa.s)
FB1	$2425,67 \pm 7,41$ b
FB2	$1770,33 \pm 8,38$ d
FB3	$3334,67 \pm 49,77$ a
FB5	$2104,67 \pm 11,14$ c

Fonte: o próprio autor.

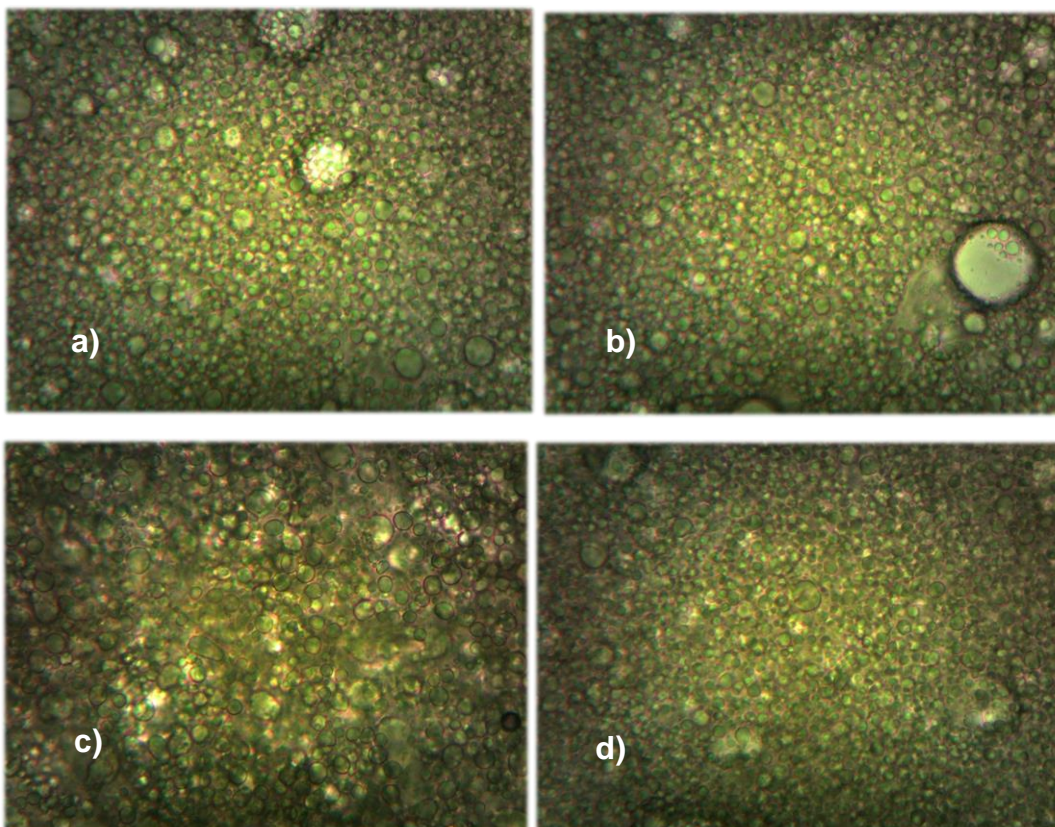
Na Tabela 8 ainda se observam os valores de tensão de cedência das formulações nas duas diferentes temperaturas. O valor de cedência (τ_0) representa a tensão de cisalhamento mínima necessária para desencadear o escoamento de um fluido, abaixo disso ela se comporta como um sólido. É considerado um importante parâmetro para avaliar a estabilidade física de formulações semissólidas (SAVIC *et al.*, 2008). No grupo de emulsões baseadas no emulsionante primário Olivem® 1000, amostras FB1 e FB2, apresentaram os maiores valores de índice de fluxo (n). De acordo com Silva *et al.* (2012), altos valores de n significam valores de tensão de cedência mais altos e foi relatado ser vantajoso para a estabilidade de emulsões durante o tempo de armazenamento.

5.3.3 Análise granulométrica

A determinação do tamanho de partícula e sua distribuição é de grande importância para mensurar a qualidade de uma emulsão cosmética ou dermatológica. Existem várias técnicas instrumentais que medem o tamanho e distribuição das partículas (micelas) como difração a laser, obscurecimento da luz e detecção de ozônio (PRESTES *et al.*, 2016). As análises por esses métodos instrumentais são consideravelmente rápidas e precisas, pois muitas partículas são dimensionadas em um curto período. No entanto, esses métodos não permitem examinar o diâmetro das gotículas como na análise microscópica. Por esse motivo a análise microscópica não pode ser comparada com esses outros métodos instrumentais (PRESTES *et al.*, 2016).

Para determinação do tamanho das partículas e a sua distribuição das formulações foi utilizado o procedimento descrito por Wengst e Daniels (2003) O valor obtido de cada amostra se deu pela média de dez medições realizadas em cada uma das 10 micrografias realizadas em diferentes regiões das mesmas (superior, média e inferior) utilizando um microscópio óptico integrado com uma câmera digital (Carl Zeiss DCM510). Como parâmetro de medição foi utilizada a medida do diâmetro segundo Feret e quantificada utilizando o software de análise Image Pro Plus 4 (Figura 20).

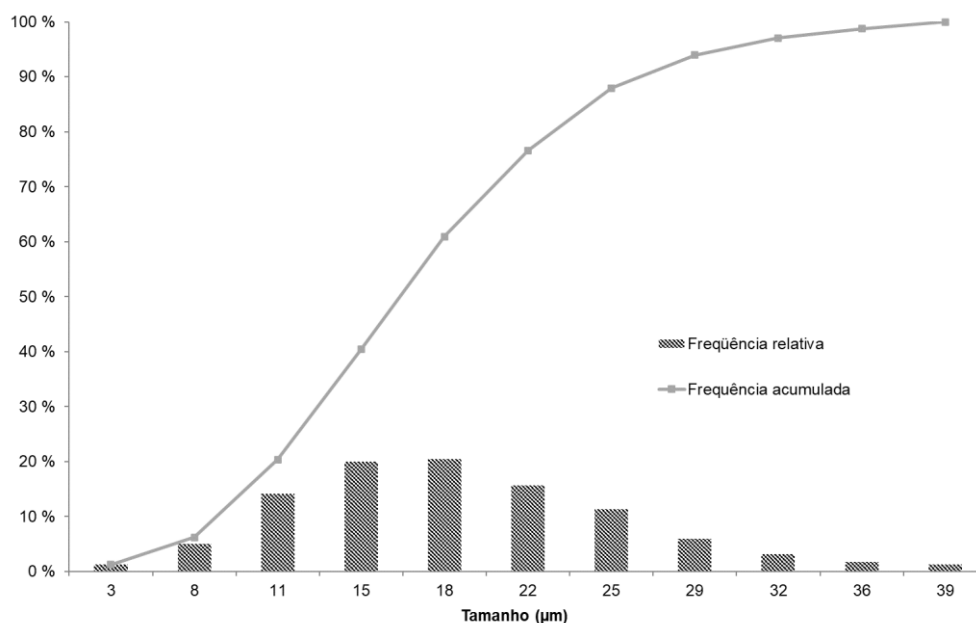
Figura 20 - Micrografias das emulsões: a) FB1, b) FB2, c) FB3 e d) FB5. Ampliação de 400X.



Fonte: o próprio autor.

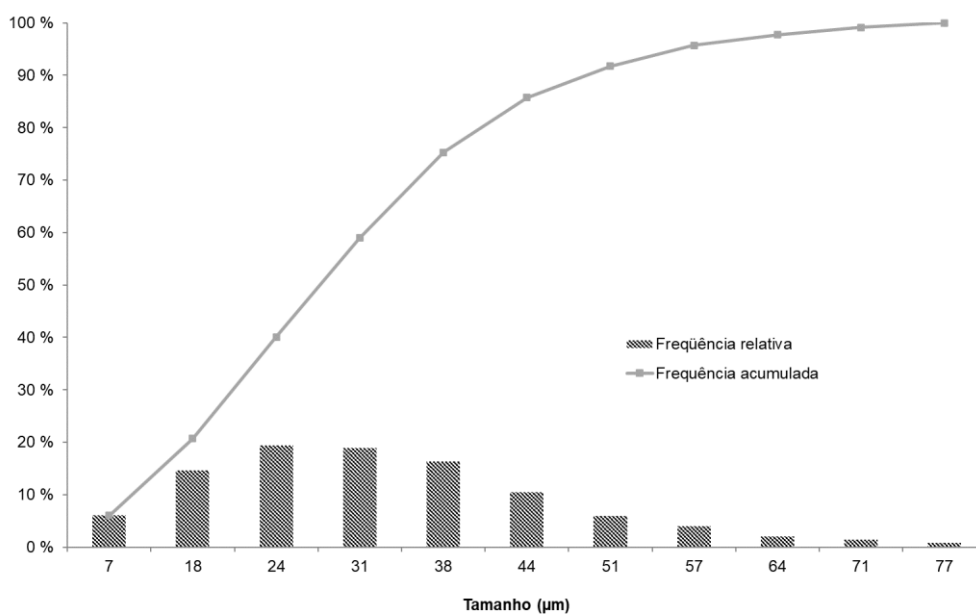
As formulações foram classificadas como macroemulsões, pois apresentaram tamanho de partícula na faixa de 2,4 a 84 μm . As gotículas apresentaram morfologia regular com diâmetro médio (μm) de $18,63 \pm 6,89$ para a formulação FB1, de $26,38 \pm 12,48$ para a FB2, de $33,02 \pm 13,86$ para a FB3 e $35,56 \pm 15,40$ para a FB5. Os gráficos de distribuição de tamanho de gotículas estão apresentados nas Figuras 21 a 24.

Figura 21 - Distribuição de tamanho das partículas da formulação FB1: (■) histograma dos intervalos de classe e (—●—) representação da distribuição cumulativa dos tamanhos de partícula.



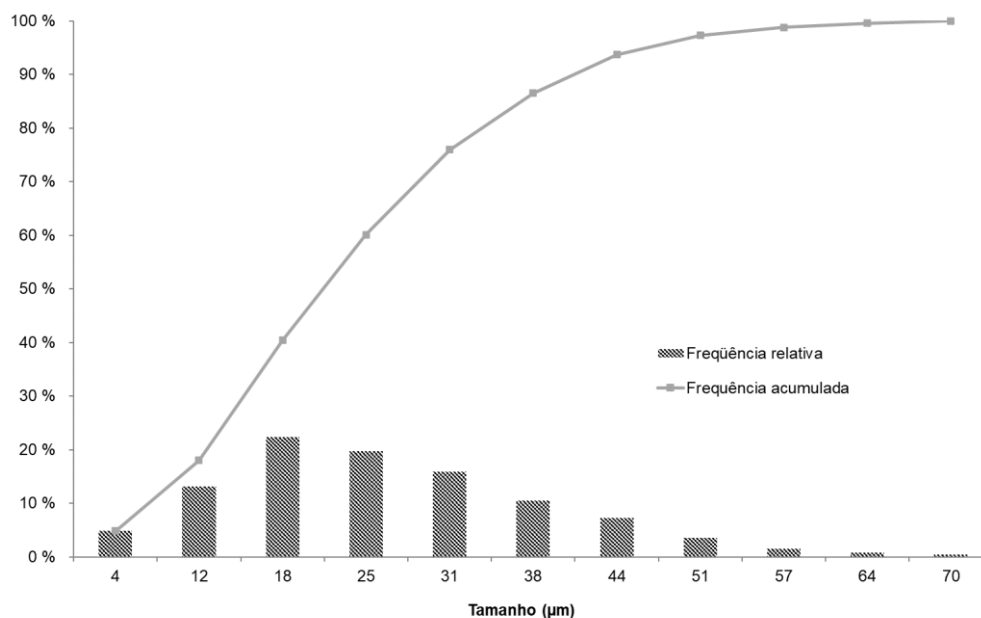
Fonte: o próprio autor.

Figura 22 - Distribuição de tamanho das partículas da formulação FB2: (■) histograma dos intervalos de classe e (—●—) representação da distribuição cumulativa dos tamanhos de partícula.



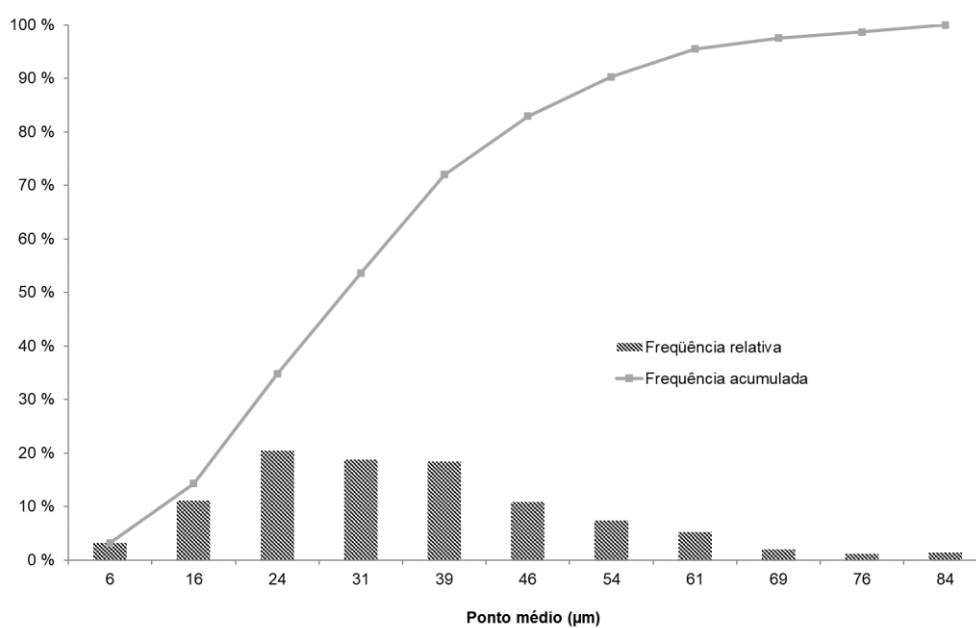
Fonte: o próprio autor.

Figura 23 - Distribuição de tamanho das partículas da formulação FB3: (■) histograma dos intervalos de classe e (—●—) representação da distribuição cumulativa dos tamanhos de partículas.



Fonte: o próprio autor.

Figura 24 - Distribuição de tamanho das partículas da formulação FB5: (■) histograma dos intervalos de classe e (—●—) representação da distribuição cumulativa dos tamanhos de partículas.



Fonte: o próprio autor.

A formulação FB1 apresentou distribuição de partículas de menor tamanho, na faixa de 2,4 a 40,02 μm e maior homogeneidade (menor desvio padrão). A fórmula FB5 apresentou a distribuição mais heterogênea e com gotículas de maior tamanho. A análise de variância mostrou diferenças significativas no tamanho das gotículas ($p = 0,05$) em relação ao tipo de sistema emulsionante utilizado.

Os tamanhos das gotículas de todas as emulsões apresentaram-se maiores que o indicado para uma emulsão cosmética O/A de boa qualidade (0,1 a 10 μm). Esse resultado pode ser justificado pela alta concentração de emulsionantes, e pela técnica de preparo, que realizou o processo de emulsificação em sistema aberto e com baixa energia mecânica (agitação com baixa velocidade de rotação). A escolha reduzir a velocidade de agitação foi para evitar a incorporação de ar na emulsão durante o processo de resfriamento. A impossibilidade de utilizar ingredientes redutores de formação de espuma ou ar na emulsão, como silicones, também corroborou para a escolha da técnica de preparo

Um dos parâmetros fundamentais na obtenção de emulsões O/A com boa estabilidade é reduzir os tamanhos das gotículas da fase interna para uma faixa de tamanho bem estreita, conforme acima mencionado. Uma emulsão bem homogeneizada também é um fator relevante para sua estabilidade física, gotículas de tamanho reduzidas revelam baixa tendência de aumentar de tamanho. Dados os componentes de uma emulsão e o equipamento usado na emulsificação, o parâmetro de maior influência para obter emulsões com partículas de menor tamanho é a intensidade de agitação (CHEN; TAO, 2005). A temperatura também possui influência significativa na emulsificação, contribui na alteração da tensão interfacial, adsorção do emulsionante e viscosidade (CHEN; TAO, 2005). Emulsionar em uma temperatura abaixo do recomendável também pode provocar coagulação dos emulsionantes inviabilizando a sua formação.

De maneira geral, um aumento na concentração de emulsionantes promove uma diminuição da tensão superficial e conseqüentemente em uma redução do tamanho de gotículas (HECHT *et al.*, 2011). No entanto, segundo CHEN e TAO (2005), existe uma janela na concentração de emulsionantes na obtenção de emulsões estáveis com tamanho de gotículas baixo, fora dela há um aumento no tamanho de gotículas e desestabilização da emulsão.

Teste de Estabilidade Acelerada – FB1										
Condição de armazenamento										
Variáveis	Temperatura ambiente (22,0 ± 3°C)				Temperatura baixa (5 ± 2°C)			Temperatura elevada (40 ± 2°C)		
pH	5,37 ± 0,03	5,25	5,22	5,15	5,31	5,26	5,18	5,26	5,14	5,03
% variação pH	-	2,2	2,8	4,1	1,1	2,0	3,5	2,0	4,3	6,3
Tamanho (µm)	18,63 ± 6,89	18,86 ± 7,18	20,08 ± 5,18	21,25 ± 7,71	19,02 ± 6,98	21,30 ± 7,78	21,89 ± 6,58	20,38 ± 5,02	22,41 ± 6,52	25,09 ± 7,31

Legenda: Aspecto: N=Normal (sem modificação em relação ao aspecto inicial); LM=Levemente modificado e M=Modificado em relação ao aspecto inicial.

Fonte: o próprio autor.

Tabela 11 - Teste de Estabilidade Acelerada da formulação FB2: determinação das propriedades organolépticas, valor de pH e variação do tamanho das partículas.

Fonte: o próprio autor.

Teste de Estabilidade Acelerada – FB2										
Condição de armazenamento										
Variáveis	Temperatura ambiente (22,0 ± 3°C)				Temperatura baixa (5 ± 2°C)			Temperatura elevada (40 ± 2°C)		
Tempo Dias	T0	T30	T60	T90	T30	T60	T90	T30	T60	T90
Aspecto	Homogêneo	N	N	N	N	N	N	N	M	M
Cor	Branca	N	N	N	N	N	N	N	LM	M
Odor	Característico	N	N	N	N	N	N	N	N	LM
pH	4,74 ± 0,02	4,68	4,75	4,95	4,67	4,70	4,56	4,60	4,61	4,44
% variação pH	-	1,26	0,2	4,4	1,5	2,0	3,5	1,5	2,7	6,3
Tamanho (µm)	26,38 ± 12,48	26,67 ± 7,18	27,47 ± 5,18	29,52 ± 6,46	28,85 ± 6,98	29,44 ± 7,30	33,2 ± 5,66	37,38 ± 15,02	N/A	N/A

Legenda: Aspecto: N=Normal (sem modificação em relação ao aspecto inicial); LM=Levemente modificado e M=Modificado em relação ao aspecto inicial.

Fonte: o próprio autor.

Tabela 12 - Teste de Estabilidade Acelerada da formulação FB3: determinação das propriedades organolépticas, valor de pH e variação do tamanho das partículas.

Fonte: o próprio autor.

Teste de Estabilidade Acelerada – FB3										
---------------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Condição de armazenamento										
Variáveis	Temperatura ambiente (22,0 ± 3°C)				Temperatura baixa (5 ± 2°C)			Temperatura elevada (40 ± 2°C)		
	T0	T30	T60	T90	T30	T60	T90	T30	T60	T90
Tempo Dias										
Aspecto	Homogêneo	N	N	N	N	N	N	LM	M	M
Cor	Branca	N	N	LM	N	N	N	N	M	M
Odor	Característico	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM
pH	5,03 ± 0,03	5,07	5,08	5,04	5,09	5,04	5,04	5,04	4,98	5,07
% variação pH	-	0,8	1	0,2	1,2	0,2	0,2	0,2	1	0,8
Tamanho (µm)	33,02 ± 13,86	36,41 ± 13,21	34,39 ± 13,78	34,44 ± 14,35	33,02 ± 11,71	35,76 ± 14,20	33,72 ± 15,68	39,05 ± 22,71	N/A	N/A

Legenda: Aspecto: N=Normal (sem modificação em relação ao aspecto inicial); LM=Levemente modificado e M=Modificado em relação ao aspecto inicial.

Fonte: o próprio autor.

Tabela 13 - Teste de Estabilidade Acelerada da formulação FB5: determinação das propriedades organolépticas, valor de pH e variação do tamanho das partículas. Fonte: o próprio autor.

Teste de Estabilidade Acelerada – FB5										
Condição de armazenamento										
Variáveis	Temperatura ambiente (22,0 ± 3°C)				Temperatura baixa (5 ± 2°C)			Temperatura elevada (40 ± 2°C)		
	T0	T30	T60	T90	T30	T60	T90	T30	T60	T90
Tempo Dias										
Aspecto	Homogêneo	N	N	N	N	N	N	LM	M	M
Cor	Bege Claro	N	N	LM	N	N	N	M	M	M
Odor	Característico	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM
pH	5,03 ± 0,03	5,14	5,05	4,98	5,08	5,12	5,04	5,13	5,14	5,07
% variação pH	-	2,19	0,4	1,0	1,0	1,79	0,2	1,99	2,19	0,8
Tamanho (µm)	35,56 ± 15,40	28,04 ± 8,96	31,13 ± 9,85	30,44 ± 10,46	28,11 ± 7,39	26,04 ± 8,96	28,98 ± 9,40	36,43 ± 16,80	N/A	N/A

Legenda: Aspecto: N=Normal (sem modificação em relação ao aspecto inicial); LM=Levemente modificado e M=Modificado em relação ao aspecto inicial.

Fonte: o próprio autor.

5.4.1 Análise Macroscópica

A formulação FB1 mostrou-se estável e sem alterações das características organolépticas (aspecto, cor e odor) durante todo o período do teste e em todas as condições de temperatura. A emulsão continuou com aspecto branco brilhante, homogênea e com sensorial agradável ao toque. Já a formulação FB2 (sem o emulsionante secundário Eumulgin® SG) apresentou-se estável durante todo tempo do teste na temperatura ambiente. Porém, na temperatura elevada de 40° C mostrou alteração no aspecto no período de análise, do 60° dia, com um leve ressecamento na superfície e mudança de coloração. Já no último período de análise (90° dia), foi observado presença de gotículas de óleo na superfície (cremeado).

A formulação FB3 elaborada com a combinação da base autoemulsionante Emulgade® PL 68/50 com o emulsionante aniônico Eumulgin® SG) apresentou sinais de instabilidade apenas quando submetida a temperatura de estresse térmico de 40° C. Na inspeção visual no 60° dia, a formulação apresentou ressecamento aparente na superfície, porém sem presença de cremado. No final do teste, no 90° dia, foi notado presença de cremeado, alteração de cor e intensidade do aspecto opaco de sua superfície por um visível sinal de ressecamento

As amostras de formulação FB5 elaboradas com a combinação da base autoemulsionante Emulium® Kappa MB com o emulsionante secundário aniônico Eumulgin® SG também apresentaram estabilidade adequada em temperatura ambiente, com manutenção do seu aspecto homogêneo. Já na temperatura de 40°C verificou-se que a emulsão base apresentou leve alteração de coloração da sua superfície no 60° dia, mas sem presença de cremeado. Na avaliação do 90° dia houve presença de gotículas na superfície – sinal de instabilidade física denominado cremeação.

Dentre os possíveis fatores que possam ter causado os sinais de instabilidade nas formulações acima citadas pode-se destacar o balanço inadequado do sistema emulsionante, emoliente e agentes de consistência (relação água e óleo), bem como, o equipamento utilizado para emulsionar o sistema (agitador mecânico), a posição da haste do agitador, a velocidade de rotação utilizada para emulsionar o sistema e também a presença de ar na emulsão. A presença de bolhas de ar em emulsões cosméticas não apenas altera sua aparência, deixando-a com aspecto

disforme, mas também pode afetar a estabilidade da emulsão ao adsorver as moléculas emulsificantes nas interfaces ar-líquido.

Assim, a formulação FB1, a base do emulsionante Olivem® 1000 e Emulgin® SG, que obteve melhor desempenho frente aos testes de estabilidade e apresentou melhor característica reológicas foi selecionada para a realização do teste desafio do sistema conservante (*Challenge Test*) e a avaliação dos efeitos na pele humana por bioengenharia cutânea.

5.4.2 Determinação do pH

De acordo com os valores de pH das formulações, verificou-se que independentemente do tipo do emulsionante utilizado todas foram consideradas compatíveis com o pH da pele, visto que o EC é levemente ácido, com valores de pH variando entre 4,0 a 6,0 (ALI; YOSIPOVITCH, 2013). De acordo com o TEA (Tabelas 14 a 17) as formulações não apresentaram variação percentual de pH superior a $\pm 10\%$ do valor de pH inicial (BRASIL, 2004). A ausência de grandes oscilações nos valores de pH durante o período do teste demonstrou que as formulações tiveram um comportamento estável nesse parâmetro, o que pode indicar estabilidade dos componentes.

5.4.3 Análise da variação do tamanho médio de partícula

O resultado experimental mostra que houve um aumento significativo no tamanho das gotículas em todas as amostras quando submetidas a temperatura de estresse térmico ($40 \pm 2^\circ\text{C}$). Conforme resultado apresentado na Tabela 10 a formulação FB1 apresentou menor tamanho de partícula e a menor variação durante todas as condições a que foi submetida. Embora a microscopia óptica ainda seja utilizada em vários estudos para avaliar a coalescência das gotículas, é um método que possui problemas estatísticos (BREWER; RAMSLAND, 1995).

5.5 TESTE DESAFIO DO SISTEMA CONSERVANTE (“CHALLENGE TEST”)

A segurança microbiológica de produtos farmacêuticos e cosméticos é um item fundamental na proteção do consumidor contra microrganismos

potencialmente patogênicos, juntamente com a preservação do produto frente a degradação biológica e físico-química. Isso é garantido por estratégias químicas, físicas ou físico-químicas. A estratégia mais comum é utilizar agentes antimicrobianos para inibir o crescimento de microrganismos contaminantes, o que pode ocorrer por uso de matérias-primas contaminadas, durante o processo de fabricação, na armazenagem do produto e, finalmente, pela utilização dos consumidores (NOUREDDINE; FERNANDES; HELENO, 2018).

Uma das alternativas para verificar-se a eficácia conservante de uma formulação cosmética é por meio do teste de desafio microbiano (“*challenge test*”), que consiste na contaminação proposital do produto com microrganismos específicos e avaliação dessa carga em intervalos de tempo pré-definidos (BRASIL, 2004). Através deste teste é possível verificar se a dosagem de conservante está adequada ao produto, e se o produto está apto a resistir às intempéries na qual será submetido durante o seu período de validade.

As especificações microbiológicas para produtos cosméticos finais, e os resultados dos testes de desafio microbiológico são obrigatórios e definidos pelos órgãos sanitários de cada país. No Brasil, os limites microbianos para cosméticos, perfumes e produtos de higiene pessoal são estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução n° 481/99 (BRASIL, 1999). Os conservantes utilizados devem estar em conformidade com o estabelecido na Resolução n° 29/2012 (BRASIL, 2012) e suas atualizações. Quanto aos métodos de análises, devem ser empregados os descritos nos compêndios oficiais e guias de orientação para análise microbiológica de cosméticos e de teste de eficácia do sistema conservante (Farmacopéias, Guia ABC (Associação Brasileira de Cosmetologia) de Microbiologia, Guia do CTFA (Conselho de Produtos para Cuidados Pessoais), entre outros) (BRASIL, 2004).

Em detrimento do custo para realização do teste desafio por empresas terceirizadas de controle de qualidade e pelos parâmetros avaliados do estudado, foi selecionado a formulação FB1 para realização do teste microbiológico e dos efeitos na pele humana. A Tabela 14 apresenta os resultados do teste desafio do sistema conservante em relação ao número de UFC/mL de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*, da formulação FB1 durante o período de realização do teste.

Tabela 14 - Contagem do número de micro-organismos viáveis em função do tempo de realização do experimento na formulação FB1.

Micro-organismos (UFC/mL)					
Tempo (dias)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus niger</i>
0	8,0x10 ⁴	1,5x10 ⁵	1,8x10 ⁵	1,8x10 ⁵	9,5x10 ³
7	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
14	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
28	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente

Fonte: o próprio autor.

Para as bactérias, no 14° dia houve redução no número de microrganismos superior a 2 log¹⁰ em relação ao inicialmente inoculado e não houve aumento da contagem no 28° dia em relação ao 14° dia. Para fungos e leveduras, não houve aumento da contagem microbiana no 14° e 28° dias em relação ao inicialmente inoculado. Avaliando os resultados obtidos no estudo, conclui-se que o sistema conservante utilizado (Sharomix® 706 associados à gluconolactona) apresentou ótima eficácia antimicrobiana no pH estudado 5,14 ± 0,04, pois além de atender as especificações do teste não foi observado crescimento microbiológico em nenhum dos tempos de análise pós inoculação.

THIEMANN e PETERSEN (2016) avaliaram a influência do sistema emulsionante na conservação de emulsões frente o teste desafio microbiano (*challenge-test*). Foram testadas 12 formulações com quantidades e tipos de sistemas emulsionantes diferentes para verificar se existia interação positiva ou negativa no desempenho conservante. O sistema emulsionante mostrou exercer influência expressiva na atividade antimicrobiana de um sistema conservante a base de emulsionantes e ácidos orgânicos. As misturas de emulsionantes não-iônicos a base de hidrocarbonetos mostrou atuação desfavorável no desempenho antimicrobiano do sistema conservante testado. Os emulsionantes aniônicos tiveram melhor atividade conservante do que os não-iônicos. Dessa forma, a associação do coemulsionante

aniônico Emulgin® SG na formulação FB1, além dos benefícios da estabilidade física, também pode apresentar benefícios na estabilidade microbiana.

5.6 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DAS FORMULAÇÕES NA PELE HUMANA POR BIOENGENHARIA CUTÂNEA

5.6.1 Avaliação dos efeitos das formulações a curto prazo.

Como não é apenas os ingredientes ativos, mas também o veículo que influencia nas condições da pele, é reconhecido que o veículo pode causar um impacto significativo no efeito hidratante e na capacidade de reter água do EC. Medições da TEWL e da hidratação do EC são abordagens relevantes para avaliar os efeitos do veículo na função de barreira do EC. O desempenho da formulação selecionada do estudo (FB1) em termos de melhoria da condição da pele foi estudada comparando-a com uma formulação convencional (PW) usada em veículos dermatológicos. Os valores da hidratação em unidade arbitrária (UA) e sua interpretação estão apresentadas na Tabela 1.

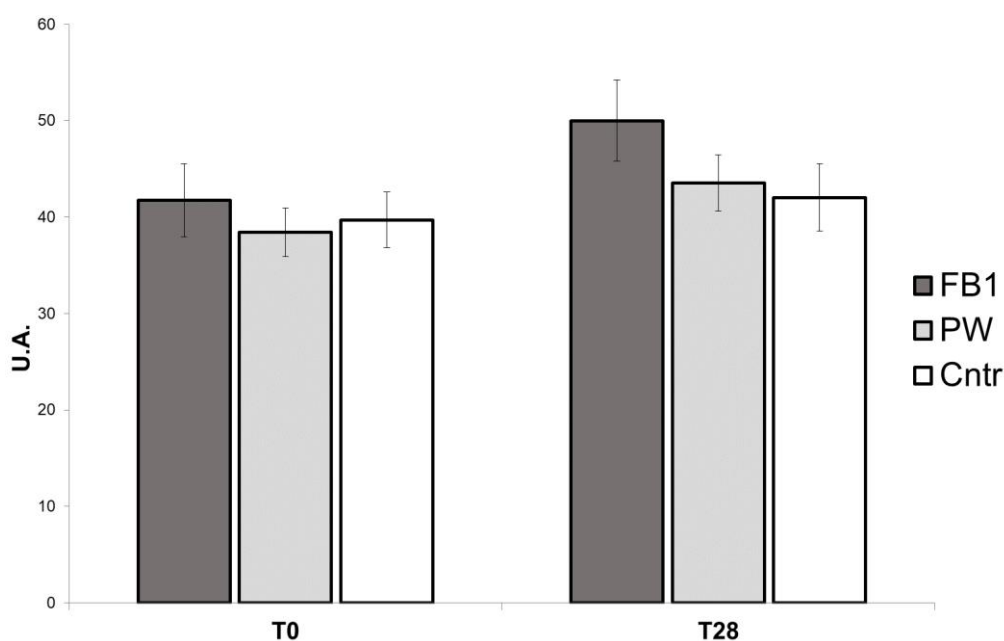
5.6.2 Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo

Pela análise dos resultados (Figura 25), podemos observar que após 28 dias de tratamento a FB1 apresentou um maior conteúdo aquoso no EC que o grupo tratado com PW e grupo controle. Contudo, foi verificada uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos FB1 e controle após 28 dias. Em adição, foi demonstrado que o grupo PW não apresentou diferença significativa em relação à área controle, indicando que a aplicação da emulsão base convencional (PW) não contribuiu para hidratar o EC. Enquanto a emulsão FB1 apresenta um efeito positivo no conteúdo aquoso do EC.

Embora haja vários fatores a se levar em consideração, podemos atribuir essa diferença de hidratação do EC da formulação FB1 em relação à área não tratada aos emolientes e emulsionantes da formulação. Enquanto a formulação PW contém somente um emoliente (triglicerídeos de ácido cáprico e caprílico), a formulação FB1 era composta por uma associação de ésteres emolientes com diferentes comprimentos de cadeias (longa, média e curta), denominado de método de cascata

de emoliência. Esse método de associação além de proporcionar melhor estética sensorial pode contribuir positivamente no efeito de hidratação de longa duração (*long lasting moisture effect*). Ademais, a formulação FB1 também foi adicionada de modificador de reologia de fase aquosa (goma xantana), que pode estar contribuindo no aumento do tempo de contato com a pele.

Figura 25 - Conteúdo aquoso do estrato córneo dos antebraços das voluntárias por meio do Corneometer® no tempo 0 e após 28 dias de aplicação das formulações estudadas. FB1 (formulação do estudo), PW (veículo convencional) e Cntrl (controle – nenhum tratamento).



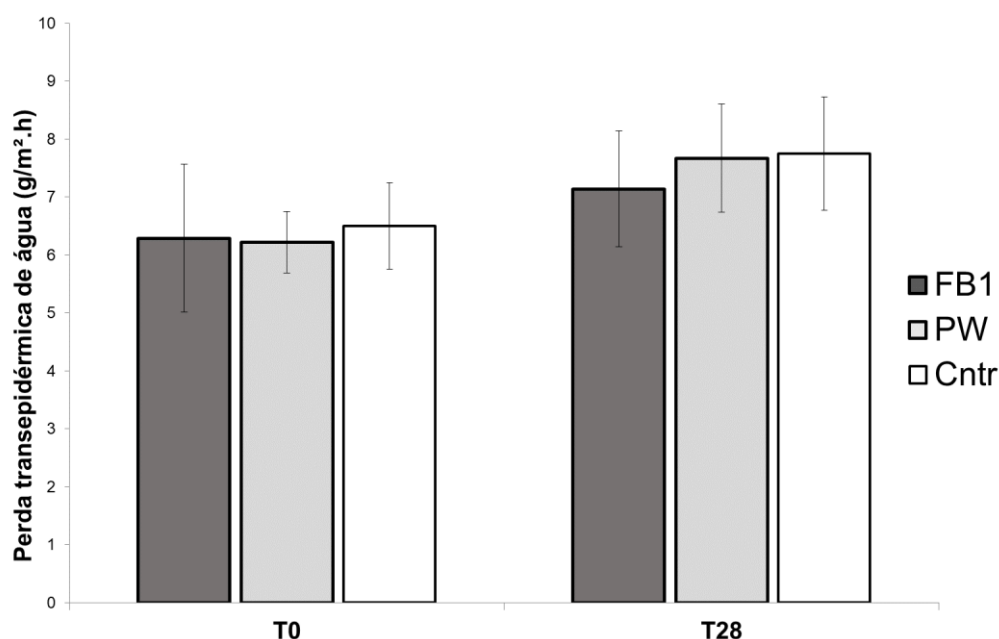
Fonte: o próprio autor.

5.6.3 Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL)

A avaliação da TEWL fornece informações sobre o estado de barreira da pele, suas medições podem ser usadas em condições normais, patológicas ou também experimentalmente de forma indireta para analisar a influência de substâncias aplicada topicamente na pele (FLUHR; FEINGOLD; ELIAS, 2006). A capacidade da TEWL em refletir as propriedades da barreira da pele justifica seu uso no teste de eficácia de produtos farmacêuticos e cosméticos de uso tópico (DARLENSKI *et al.*, 2009).

A TEWL como parâmetro indicativo do estado da barreira da pele foi analisada pelas medições da sonda Tewameter® 300 na região volar dos antebraços das voluntárias. De acordo com os resultados apresentados (Figura 26) foi observado um pequeno aumento da perda transepidermica da água após 28 dias para todas as áreas tratadas e controle. Também, observou-se que essa perda foi maior para tratamento com PW e controle em comparação a FB1. Contudo, não houve diferenças significativas nos valores de TEWL entre os tratamentos e área controle (one-way ANOVA, $p > 0,05$).

Figura 26 - Perda de água transepidermica (TEWL) dos antebraços das voluntárias por meio do Corneometer® no tempo 0 e após 28 dias de aplicação das formulações estudadas. FB1 (formulação do estudo), PW (veículo convencional) e Cntrl (controle – nenhum tratamento).



Fonte: o próprio autor.

Os resultados do presente estudo mostraram uma pequena variação da TEWL, não sendo passível de afirmação de que com o uso das formulações há uma influência na função de barreira da pele, em termos de perda de umidade. As médias de todas as análises permaneceram na faixa de 0 a 10 (condição muito saudável) (Tabela 2). Uma variável que pode ter apresentado uma maior influência

nesse estudo foi o fluxo de ar no campo de teste, que não foi totalmente controlado. Além das variáveis relacionadas ao ambiente e ao instrumento, fatores individuais também são reconhecidos por intervir nos resultados (ROGIERS, 2001).

Esses resultados estão de acordo com estudos realizados por Lóden e Wessman (2001). No primeiro estudo foi avaliado o efeito a curto prazo (20 dias) nas propriedades de barreira da pele pela utilização de creme hidratante com diferentes concentrações de ureia. No segundo estudo avaliou-se o mesmo parâmetro, mas pela aplicação durante 10 dias de um creme contendo 20% de ureia em comparação com seu veículo. Em ambos os estudos não foi demonstrado nenhuma influência da aplicação repetida dessas formulações hidratantes na pele humana na função de barreira da pele em termos de TEWL.

6 CONCLUSÃO

O desenvolvimento e a caracterização das formulações contendo diferentes tipos de emulsionantes demonstrou que a escolha do emulsionante primário altera consideravelmente o tamanho de partículas e conseqüentemente sua estabilidade física no armazenamento a longo prazo. A associação de um co-emulsionante aniônico nas formulações revelou potencial benefício na formação de emulsões tamanho de partículas reduzidos, aumento de viscosidade e estabilidade física. Dentre as nove formulações testadas, quatro foram aprovadas (FB1, FB2, FB3 e FB4) em diversas análises, mas apenas FB1 foi considerada estável, por apresentar estabilidade frente ao estudo de estabilidade acelerada.

Todas as quatro formulações (FB1, FB2, FB3 e FB4) apresentaram comportamento reológico de fluxo não-newtoniano pseudoplástico, com presença de tixotropia e tensão de cedência.

O sistema conservante utilizado, composto de ácido dehidroacético, ácido benzóico e álcool benzílico com Gluconolactona obteve excelente desempenho no teste do desafio do sistema conservante, não sendo observado crescimento microbiológico nas condições e período avaliados. Além disso, apresentou pH compatível com a pele ($5,14 \pm 0,04$).

Os resultados do estudo de eficácia clínica mostraram que a formulação FB1, desenvolvida com ingredientes naturais melhorou o teor de hidratação cutânea em 28 dias de aplicação na região volar do antebraço das voluntárias, em comparação com a região controle não tratada. Pela avaliação dos resultados de TEWL não foi possível observar alterações significativas entre as formulações nesse parâmetro, contudo demonstraram permanecer em valores considerados ideais.

De acordo com os resultados das análises físico-químicas, estabilidade acelerada e eficácia clínica, a formulação FB1 apresentou-se adequada para sugerir o seu uso como veículo tópico dermatológico e cosmético.

Esse estudo demonstrou que a formulação FB1 apresentou características essenciais para ser aplicado no setor magistral, como, viscosidade elevada, alta estabilidade, compatibilidade dérmica ("*Skin friendly*") e sensorial agradável, utilizando apenas ingredientes considerados naturais e sustentáveis.

REFERÊNCIAS

AHMED, I. A.; MIKAIL, M. A.; ZAMAKSHSHARI, N.; ABDULLAH, A. S. H. Natural anti-aging skincare: role and potential. **Biogerontology**, London, v. 21, n. 3, p. 293–310, jun. 2020.

AL-BAWAB, A.; FRIBERG, S. E. Some pertinent factors in skin care emulsion. **Advances in Colloid and Interface Science**, Potsdam, v. 123–126, n. SPEC. ISS, p. 313–322, nov. 2006.

ALBERT, C. *et al.* Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. **Journal of Controlled Release**, Salt Lake City, v. 309, p. 302–332, set. 2019.

ALI, S.M.; YOSIPOVITCH, G. Skin pH: From basic science to basic skin care. **Acta Dermato-Venereologica**, Uppsala, v. 93, n. 3, p. 261-267, maio. 2013.

AMBERG, N.; FOGARASSY, C. Green consumer behavior in the cosmetics market. **Resources**, Basel, v. 8, n. 3, jul. 2019.

ANFARMAG Panorama Setorial [S.I.], 2018. **Dados socioeconômicos das farmácias de manipulação**. Disponível em: <http://conteudo.anfarmag.org.br/panorama-setorial>. Acesso em: 28 mar. 2020.

ARIFFIN, N. H. M; HASHAM, R. Assessment of non-invasive techniques and herbal-based products on dermatological physiology and intercellular lipid properties. **Heliyon**, Hampshire, v. 6, n. 5, maio. 2020.

BAZIN, R.; FANCHON, C. Equivalence of face and volar forearm for the testing of moisturizing and firming effect of cosmetics in hydration and biomechanical studies. **International Journal of Cosmetic Science**, Hoboken, v. 28, n. 6, p. 453–460, jan. 2006.

BONFILIO, R.; LUZ EMERICK, G.; NETTO JÚNIOR, A.; NUNES SALGADO, H. R. Farmácia Magistral: Sua Importância E Seu Perfil De Qualidade. **Revista Baiana de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 653, jul/set. 2010.

BOUWSTRA, J. A.; HONEYWELL-NGUYEN, P. L.; GOORIS, G. S.; PONEC, M. Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. **Progress in Lipid Research**, Iowa City, v. 42, n. 1, p. 1–36, jan. 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 5, n185, p.29, de 27 set. 1999.

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Séries temáticas. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília, DF, v.1. p. 52, 2004. Disponível em:
<http://portal.anvisa.gov.br/documents/106351/107910/Guia+de+Estabilidade+de+Produtos+Cosm%C3%A9ticos/49cdf34c-b697-4af3-8647-dcb600f753e2>. Acesso em: 10 jan. 2020.
- BREWER, E.; RAMSLAND, A. Particle size determination by automated microscopical imaging analysis with comparison to laser diffraction. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Lawrence, v. 84, n. 4, p. 499–501, abr. 1995.
- BRUSCHI, M. L.; CARDOSO, M. L. C.; LUCCHESI, M. B.; GREMIÃO, M. P. D. Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: Preparation and characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 264, n. 1–2, p. 45–55, nov. 2003.
- BUSCHE, M.; THRAEN, A.-C.; GOHRITZ, A.; RENNEKAMPFF, H.-O.; VOGT, P. Burn Scar Evaluation Using the Cutometer® MPA 580 in Comparison to “Patient and Observer Scar Assessment Scale” and “Vancouver Scar Scale”. **Journal of Burn Care & Research**, Philadelphia, v. 39, dez. 2017.
- CALIXTO, L. S.; INFANTE, V. H. P.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Design and Characterization of Topical Formulations: Correlations Between Instrumental and Sensorial Measurements. **AAPS PharmSciTech**, Arlington, v. 19, n. 4, p. 1512–1519, fev. 2018.
- CHEN, G.; TAO, D. An experimental study of stability of oil-water emulsion. **Fuel Processing Technology**, Amsterdam. v. 86, n. 5, p. 499–508, fev. 2005.
- CFF – Conselho Federal de Farmácia. Resolução CFF nº 467 de 28 de novembro de 2007. Define, regulamenta e estabelece as atribuições e competências do farmacêutico na manipulação de medicamentos e de outros produtos farmacêuticos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 144, n. 243, p. 76, 19 dez. 2007.
- COURAGE, K.; KHAZAKA, G. **Information and operating instructions for the multi probe adapter MPA and its probes**, 2020. Disponível em:
https://www.courage-khazaka.de/images/Downloads/Brochures/Wissenschaftlich/Brochure_MPA.pdf. Acesso em: 14 jul. 2020.
- COURAGE, K.; KHAZAKA, G. **Corneometer®, Technical Information**, 2020. Disponível em:
https://www.couragekhazaka.de/images/Downloads/Brochures/Wissenschaftlich/Brochure_Corneometer.pdf. Acesso em: 14 jul. 2020.
- DANIELS, R.; KNIE, U. Galenik der dermatika - Grundlagen, eigenschaften, freisetzung. **JDDG - Journal of the German Society of Dermatology**, Hoboken, v. 5, n. 5, p. 367–383, abr. 2007.

- DARLENSKI, R., SASSNING, S., TSANKOV, N., FLUHR, J.W.: Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties. **Eur. J. Pharm. Biopharm**, Amsterdam, v.72, n.2, p.295-303, jun. 2009.
- DAVIS, H.M. Analysis of creams and lotions. In: SENZEL, A.J. **Newburger's manual of cosmetic analysis**. 2. nd. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1977. p. 32.
- DERKACH, S. R. Rheology of emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 151, n. 1–2, p. 1–23, ago. 2009.
- DICKINSON, Katy L.; WIEGAND, Ulrich K.; THIJSSSEN, Job H. J. Soft meets hard -- how does freeze-thaw cycling affect the microstructure of particle-stabilised emulsions? [S. l.], p. 1–31, 2019.
- DRAELOS, Zoe. **Cosmeceuticals: Procedures in cosmetic dermatology**. 3. ed. Philadelphia: Elsevier, 2016
- DU PLESSIS, J. L.; STEFANIAK, A. B.; WILHELM, K. P. Measurement of Skin Surface pH. In: **Current Problems in Dermatology**. [s.l: s.n.]. v. 54 p. 19–25, 2018.
- DU PLESSIS, J. *et al.* International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration. **Skin Research and Technology**, v. 19, n. 3, p. 265–278, 2013.
- ECOCERT. [S. l.], 2012. **Referencial Ecocert para cosméticos naturais e orgânicos**. Disponível em: <http://brazil.ecocert.com/system/files/Referencial-Cosmeticos-Naturais-e-Organicos-Ecocert.pdf>. Acesso em: 12 Jul. 2020.
- KREMERS, E.; SONNEDECKER, G. **Kremers and Urdang's History of Pharmacy**. 4th ed. Madison: American Institute of the History of Pharmacy, 1986. p. 576.
- EPSTEIN, Howard. Cosmeceutical vehicles. **Clinics in Dermatology**, [S. l.], v. 27, n. 5, p. 453–460, set/out. 2009.
- FARMACOPÉIA Brasileira, volume 1. 6° ed. Brasília, 2019.
- FERREIRA, A. de O.; BRANDÃO, M.; POLONINI, H. C. **Guia prático da farmácia magistral**. volume 2. 5. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2018. p. 1690.
- FITZPATRICK, T. B. Soleil et peau (Sun and skin). **Journal de Médecine Esthétique**, v. 2, p. 33–34, 1975.
- FLUHR, J. W.; ELIAS, P. M. Stratum corneum pH: Formation and function of the “acid mantle”. **Exogenous Dermatology**, [S.l.], v. 1, n. 4, p. 163–175, nov. 2002.
- FLUHR, J. W.; FEINGOLD, K. R.; ELIAS, P. M. Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: Validation in human and rodent in vivo and ex vivo models. **Experimental Dermatology**, [S.l.], v. 15, n. 7, p. 483–492, jul.2006.

FONSECA-SANTOS, B.; ANTONIO CORRÊA, M.; CHORILLI, M. Sustainability, natural and organic cosmetics: Consumer, products, efficacy, toxicological and regulatory considerations. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 51, n. 1, p. 17–26, jan/mar. 2015.

FRANZOL, A.; REZENDE, M. C. Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. **Polímeros**, São Carlos, v. 25, p. 1–9, 2015.

FURUICHI, M. *et al.* The usefulness of sebum check film for measuring the secretion of sebum. **Archives of Dermatological Research**, [S.l.] v. 302, n. 9, p. 657–660, ago. 2010.

GONÇALVES, G.; CAMPOS, P. Aplicação de métodos de biofísica no estudo da eficácia de produtos dermocosméticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 1-10, jan/mar. 2009.

GRIFFIN W. C. Classification of Surface-active Agents by “HLB”. **Journal of the SCC**, [S. l], v.5, p. 4-15, 1949.

HADZOVIC, S: Pharmacy and the great contribution of Arabic-Islamic science to its development. **Med Arh**, [S. l], v. 51, n.1, p. 47-50, dez.1996.

HECHT, L. L.; WAGNER, C.; LANDFESTER, K.; SCHUCHMANN, H. P. Surfactant concentration regime in miniemulsion polymerization for the formation of MMA nanodroplets by high-pressure homogenization. **Langmuir**, New York, v. 27, n. 6, p. 2279–2285, fev. 2011.

HEINRICH, U. *et al.* Multicentre comparison of skin hydration in terms of physical-, physiological- and product-dependent parameters by the capacitive method (Corneometer CM 825). **International Journal of Cosmetic Science**, [S. l], v. 25, n. 1–2, p. 45–53, abr. 2003.

HIBGY, J.G. From Compounding to Caring: An Abridged History of American Pharmacy. In: KNOWLTON, C.H; PENNA, R.P. **Pharmaceutical Care Paperback**. Bethesda: ASHP, 2003. p. 19-43.

ISAAC, V. L. B *et al.* Effect of various thickening agents on the rheological Properties of oil-in-water emulsions containing nonionic emulsifier. **Journal of Dispersion Science and Technology**, [S. l], v. 34, n. 6, p. 880–885, maio. 2013.

JAKSIC, I. *et al.* Compounding of a topical drug with prospective natural surfactant-stabilized pharmaceutical bases: Physicochemical and in vitro/in vivo characterization - A ketoprofen case study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [S. l], v. 80, n. 1, p. 164–175, jan. 2012.

JANSEN VAN RENSBURG, S.; FRANKEN, A.; DU PLESSIS, J. L. Measurement of transepidermal water loss, stratum corneum hydration and skin surface pH in

occupational settings: A review. **Skin Research and Technology**, [S. I], v. 25, n. 5, p. 595–605, maio. 2019.

KOWALSKA, M.; ZIOMEK, M.; ZBIKOWSKA, A. Stability of cosmetic emulsion containing different amount of hemp oil. **International Journal of Cosmetic Science**, [S. I], v. 37, n. 4, p. 408–416, fev. 2015.

LAMBERS, H.; PIESSENS, S.; BLOEM, A.; PRONK, H.; FINKEL, P. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. **International Journal of Cosmetic Science**, [S. I], v. 28, n. 5, p. 359–370, out. 2006.

LARSON, R. G.; WEI, Y. A review of thixotropy and its rheological modeling. **Journal of Rheology**, [S. I], v. 63, n. 3, p. 477–501, maio. 2019.

LERCHE, D.; SOBISCH, T. Direct and accelerated characterization of formulation stability. **Journal of Dispersion Science and Technology**, [S. I], v. 32, n. 12, p. 1799–1811, nov. 2011.

LIMBERT, G. et al. Biotribology of the ageing skin—Why we should care. **Biotribology**, [S. I], v. 17, p. 75–90, mar. 2019.

LIU, X.; KRUGER, P.; MAIBACH, H.; COLDITZ, P. B.; ROBERTS, M. S. Using skin for drug delivery and diagnosis in the critically ill. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S. I], v. 77, p. 40–49, nov. 2014.

LODÉN, M.; WESSMAN, C. The influence of a cream containing 20% glycerin and its vehicle on skin barrier properties. **International Journal of Cosmetic Science**, [S. I], v. 23, n. 2, p. 115–119, dez. 2001.

LOGGER, J. G. M. *et al.* Noninvasive Skin Barrier Assessment: Multiparametric Approach and Pilot Study. **Cosmetics**, mar. 2019.

MASIC, I. *et al.* Contribution of Arabic Medicine and Pharmacy to the Development of Health Care Protection in Bosnia and Herzegovina - the First Part. **Medical archives (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina)**, [S. I], v. 71, n. 5, p. 364–372, out. 2017.

MCGRATH, J. A.; UITTO, J. Structure and Function of the Skin. In: GRIFFITHS, C. *et al.* **Rook's Textbook of Dermatology**, 9nd ed. Hoboken: John Wiley & Sons Inc, 2016. p. 1-52.

MCMULLEN, R. L.; GORCEA, M.; CHEN, S. Emulsions and their Characterization by Texture Profile Analysis. **Handbook of Formulating Dermal Applications: A Definitive Practical Guide**, 1st ed. Beverly: Scrivener Publishing LLC, 2016. p. 129-153.

MENON, G. K. New insights into skin structure: Scratching the surface. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [SI], v. 54, n. SUPPL., p. S3, nov. 2002.

MINTEL Global New Products Database [S. l.], 2020. **New product launch claims: skin care and color cosmetics**. Disponível em: <https://www.mintel.com/global-new-products-database>. Acesso em: 10 jun. 2020.

MOHD ARIFFIN, N. H.; HASHAM, R. Assessment of non-invasive techniques and herbal-based products on dermatological physiology and intercellular lipid properties. **Heliyon**, [S l], v. 6, n. 5, maio. 2020.

MONTENEGRO, L.; CARBONE, C.; PAOLINO, D.; et al. In vitro skin permeation of sunscreen agents from O/W emulsions. **International journal of cosmetic science**, [S l], v. 30, p. 57–65, mar. 2008.

NARSIMHAN, G.; GOEL, P. Drop coalescence during emulsion formation in a high-pressure homogenizer for tetradecane-in-water emulsion stabilized by sodium dodecyl sulfate. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S l], v. 238, n. 2, p. 420–432, jun. 2001.

NOLAN, K.; MARMUR, E. Moisturizers: Reality and the skin benefits. **Dermatologic Therapy**, [S l], v. 25, n. 3, p. 229–233, ago. 2012.

NORLÉN, L. Skin barrier formation: The membrane folding model. **Journal of Investigative Dermatology**, [S l], v. 117, n. 4, p. 823–829, out. 2001.

NOUREDDINE, H.; FERNANDES, I.; HELENO, S.; et al. Cosmetics Preservation: A Review on Present Strategies. **Molecules**, [S l], v. 23, p. 1571, jun. 2018.

OHSHIMA, H. et al. Use of Cutometer area parameters in evaluating age-related changes in the skin elasticity of the cheek. **Skin Research and Technology**, [S l], v. 19, n. 1, p. 1–5, jan. 2013.

OTTO, A.; DU PLESSIS, J.; WIECHERS, J. W. Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery. **Int J Cosmet Sci**, [S. l], v.31, n.1, p. 1-19, fev. 2009.

OTTO, A. et al. Effect of emulsifiers and their liquid crystalline structures in emulsions on dermal and transdermal delivery of hydroquinone, salicylic acid and octadecenedioic acid. **Skin Pharmacology and Physiology**, [S l], v. 23, n. 5, p. 273–282, jul. 2010.

PANDE, S. Y.; MISRI, R. Sebumeter. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, [S l], v. 71, n. 6, p. 444–446, nov/dez. 2005.

PASQUALI, R. C.; TAUROZZI, M. P.; BREGNI, C. Some considerations about the hydrophilic-lipophilic balance system. **International Journal of Pharmaceutics**, [S l], v. 356, n. 1–2, p. 44–51, maio. 2008.

PRESCOTT, S. L. et al. The skin microbiome: Impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. **World Allergy Organization Journal**, [S l], v. 10, n. 1, p. 1–16, ago. 2017.

PRESTES, P. S.; PERES, D. D.; DE FREITAS, A. Z.; et al. Particle size and morphological characterization of cosmetic emulsified systems by optical coherence tomography (OCT). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 52, n. 2, p. 273–280, abr./jun. 2016.

PURNAMAWATI, S. *et al.* The role of moisturizers in addressing various kinds of dermatitis: A review. **Clinical Medicine and Research**, [S. l], v. 15, n. 3–4, p. 75–87, dez. 2017.

RENSBURG S.J.V.; FRANKEN, A.; DU PLESSIS, J.L. Measurement of transepidermal water loss, stratum corneum hydration and skin surface pH in occupational settings: **A review. Skin Res Technol.** [S. l], v. 25, n. 4, p. 595-605, set. 2019.

RIBEIRO, A. S.; ESTANQUEIRO, M.; OLIVEIRA, M. B.; LOBO, J. M. S. Main benefits and applicability of plant extracts in skin care products. **Cosmetics**, [S. l], v. 2, n. 2, p. 48–65, abr. 2015.

ROGIERS, V. EEMCO Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss in Cosmetic Sciences. **Skin Pharmacology and Physiology**, [S. l], v. 14, n. 2, p. 117–128, mar./abr. 2001.

SÁNCHEZ-REGÁNA, M. *et al.* Compounding as a Current Therapeutic Option in Dermatology. **Actas Dermosifiliogr**, [S. l], v. 104, n. 9, p. 738–756, nov. 2013.

SAVIC, S. *et al.* An alkyl polyglucoside-mixed emulsifier as stabilizer of emulsion systems: The influence of colloidal structure on emulsions skin hydration potential. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l], v. 358, n. 1, p. 182–191, jun. 2011.

SAVIC, S. *et al.* Natural surfactant-based emulsion systems: The influence of common pharmaceutical excipients on colloidal structure and physical stability. **Journal of Dispersion Science and Technology**, [S. l], v. 29, n. 9, p. 1276–1287, set. 2008.

SCHMID-WENDTNER, M. H.; KORTING, H. C. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. **Skin Pharmacology and Physiology**, [S. l], v. 19, n. 6, p. 296–302, jul. 2006.

SILVA, A. C. *et al.* Solid lipid nanoparticles (SLN) - based hydrogels as potential carriers for oral transmucosal delivery of Risperidone: Preparation and characterization studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l], v. 93, p. 241–248, maio. 2012.

SISKA, B.; SNEJDROVA, E.; MACHAC, I.; DOLECEK, P.; MARTISKA, J. Contribution to the rheological testing of pharmaceutical semisolids. **Pharmaceutical Development and Technology**, [S. l], v. 24, n. 1, p. 80–88, jan. 2019.

STEFANIAK, A. B. *et al.* International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 1. pH. **Skin Research and Technology**, [S. I], v. 19, n. 2, p. 59–68, maio. 2013.

STROCCHIA, S.T. The nun apothecaries of Renaissance Florence: Marketing medicines in the convent. **Renaissance Studies**, [S. I], v. 25, n. 5, p. 627–647, fev. 2011.

SURBER, C.; KNIE, U. Metamorphosis of Vehicles: Mechanisms and Opportunities. **Current Problems in Dermatology**, [S. I], v. 54, p. 152–165, jan. 2018.

SURBER, C.; KOTTNER, J. Skin care products: What do they promise, what do they deliver. **Journal of Tissue Viability**, [S. I], v. 26, n. 1, p. 29–36, fev. 2017.

SURBER, C.; SMITH, E. W. The mystical effects of dermatological vehicles. **Dermatology**, [S. I], v. 210, n. 2, p. 157–168, fev. 2005.

TADROS, T. Principles of Emulsion Stabilization with Special Reference to Polymeric Surfactants. **Journal of cosmetic science**, [S. I], v. 57, p. 153–169, mar. 2006.

TADROS, T. F. **Emulsion Formation and Stability**. 1st ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2013. p. 272.

TAKIWAKI, H. Measurement of Erythema and Melanin Indices. In: Serup, J Gregor.; Jemec, G. B. E.; Grove, G.L. **Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin**. 2.nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 665–671.

TAYLOR, H. Instruments for Measuring Skin Toxicity. In: CHILCOTT, R; PRICE, S. **Principles and Practice of Skin Toxicology**. West Sussex: Wiley, 2008. p. 201-2020.

TCHOLAKOVA, S.; DENKOV, N. D.; BANNER, T. Role of surfactant type and concentration for the mean drop size during emulsification in turbulent flow. **Langmuir**, [S. I], v. 20, n. 18, p. 7444–7458, ago. 2004.

THIEMANN, A.; PETERSEN, W. Emulsifier system influences O/W emulsion preservation. **Personal Care**, [S. I], p. 60–62, fev. 2016.

THOMAZ, S. Manipulação magistral no Brasil: cinco séculos de futuro. **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, [S. I], v.3, p. 10-16, jan. 2001.

TREESIRICHOD, A.; CHANSAKULPORN, S.; WATTANAPAN, P. Correlation between skin color evaluation by skin color scale chart and narrowband reflectance spectrophotometer. **Indian journal of dermatology**, [S. I], v. 59, n. 4, p. 339–342, jul./ago. 2014.

TSCHANZ, D. W. A Short History of Islamic Pharmacy. **Journal of the International Society for the History of Islamic Medicine**, [S. I], v. 1, p. 11–17, 2003.

VERDIER-SÉVRAIN, S.; BONTÉ, F. Skin hydration: A review on its molecular mechanisms. **Journal of Cosmetic Dermatology**, [S. l], v. 6, n. 2, p. 75–82, jun. 2007.

WENGST, J.; DANIELS, R. Proceedings of the International Meeting on Pharmaceutics, Nuremberg: [s.n.]. **Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology**, 2004, p. 619–620.

WIECHERS, J. W.; ESCRIBANO, E.; et al. A Study on the Influence of Emulsion Droplet Size on the Skin Penetration of Tetracaine. **Skin pharmacology and physiology**, [S. l], v. 20, p. 263–270, jul. 2007.

WILLENBACHER, N.; GEORGIEVA, K. Rheology of disperse systems. In: Bröckel, U.; Meier, W.; Wagner, G. **Product Design and Engineering: Formulation of Gels and Pastes**. Weinheim: Wiley-VCH, 2013. p. 7-49.

TAKIWAKI, H. Measurement of Erythema and Melanin Indices. In: Serup, J.; Gregor.; Jemec, G. B. E.; Grove, G.L. **Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin**. 2.nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 665–671.

WOHLRAB, J. Topika und deren Einsatz in der Dermatologie. **JDDG - Journal of the German Society of Dermatology**, [S. l], v. 14, n. 11, p. 1061–1071, nov. 2016.

YAGI, M.; YONEI, Y. Glycative stress and anti-aging: 3. The evaluation of glycative Stress: Measurement of advanced glycation end products (AGEs). **Glycative Stress Research**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 53–57, jun. 2017.

ZOGRAFI, G. Physical stability assessment of emulsions and related disperse systems : a critical review. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, [S. l], v. 33, n. July, p. 345–358, jan. 1982.

ANEXOS

ANEXO A - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da eficácia in vivo de formulação dermocosmética contendo ingredientes naturais

Pesquisador: Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 95564918.4.3001.0104

Instituição Proponente: CCS - Centro de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.968.234

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa proposto por pesquisador vinculado à Universidade Estadual de Maringá.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos gerais serão avaliar em pacientes do sexo feminino os efeitos da aplicação tópica da formulação dermocosmética contendo ingredientes naturais, bem como investigar sua eficácia in vivo em relação a hidratação, oleosidade e pH da pele. Os objetivos específicos serão: Otimizar por planejamento estatístico fatorial a obtenção de formulações cosméticas e farmacêuticas para aplicação tópica; Caracterizar as formulações quanto aos aspectos farmacotécnicos; comparar a eficácia in vivo da formulação dermocosmética teste com uma formulação tópica convencional em relação à hidratação, oleosidade e pH da pele.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo o pesquisador, serão tomados todos os cuidados necessários para prevenir qualquer dano ou prejuízo que possa acontecer aos voluntários durante o período do estudo. No entanto, mesmo se tratando de um procedimento não invasivo, rápido e seguro, pode ocorrer risco de hipersensibilidade a algum componente da formulação, sintomas de irritação ou dermatite de contato durante o estudo. Caso haja a necessidade de assistência médica, o voluntário será acompanhado junto de um membro da equipe para a unidade de pronto-atendimento mais

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG, sala 4
Bairro: Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900
UF: PR **Município:** MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4597 **Fax:** (44)3011-4444 **E-mail:** copep@uem.br



Continuação do Parecer: 2.968.234

próxima, por um membro da equipe de pesquisa. Qualquer despesa referente a assistência médica será de responsabilidade do grupo de pesquisa – sem prejuízo financeiro para os voluntários. Benefícios: Não haverá benefícios diretos ao participante. No entanto o resultado desse presente trabalho estabelecerá bases para uma colaboração frutífera entre a equipe de pesquisa interinstitucional na área da cosmetologia. Avanço científico pela divulgação dos resultados à sociedade por meio de artigos científicos e participação em eventos acadêmicos. Promoção do desenvolvimento tecnológico com inovação realizado em parceria com o setor privado através do desenvolvimento de um produto com pedido de depósito de patente, incentivando a interação universidade-empresa na busca de inovação. Por fim, espera-se que os resultados desse estudo contribuam para um melhor tratamento dermatológico e cosmético personalizado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão avaliadas duas formulações semissólidas emulsivas do tipo óleo-em-água (O/A). Uma formulação irá conter ingredientes naturais e a outra será composta por ingredientes convencionais. As formulações serão desenvolvidas, cuja qualidade será previamente avaliada sob aspectos farmacotécnicos, físico-químicos e microbiológico, incluindo testes de citotoxicidade e estabilidade. As formulações serão compostas com ingredientes utilizados habitualmente em produtos dermocosméticos – sendo em sua totalidade aprovados para uso cosmético nas concentrações a que se destinam. As emulsões foram formuladas com as seguintes matérias-primas e de acordo com o Sistema Internacional de Nomenclatura Cosmética (INCI), sem ordem de representabilidade para as substâncias: aqua (destilada), disodium EDTA, (Embacaps, RS, Brasil), glicerol (Embacaps, RS, Brasil), tocopherol (Embacaps, RS, Brasil), undecane (and) tridecane (Embacaps, RS, Brasil), sodium stearyl glutamate (Embacaps, RS, Brasil), cetearyl olivate (and) sorbitan olivate (Biovital, SP, Brasil), glyceryl behenate (i9 magistral, SP, Brasil), glyceryl stearate (Embacaps, RS, Brasil), cetearyl glucoside (and) cetearyl alcohol (I9 magistral, SP, Brasil), cetearyl alcohol (and) cetareth 20 (and) mineral Oil (and) lanolin alcohol (and) petrolatum (Pharmaspecial, SP, Brasil), caprylic/capric triglyceride (Embacaps, RS, Brasil), triticum vulgare (wheat) seed extract (Biodiversité, PR, Brasil), dehydroacetic acid (and) benzoic acid (and) benzyl alcohol (Sarfam, SP, Brasil), methylparaben (Fagron, SP, Brasil), propylparaben (Fagron, SP, Brasil) phenoxyethanol (Aqia, SP, Brasil). Será empregado o equipamento contendo uma base Multi Probe Adapter System® MPA-5P/9 (Courage-Khazaka®, Alemanha), que contém três unidades conjugadas, sendo: Corneometer® CM825 para medida da hidratação por meio de método capacitivo, Sebumeter® SM815 para medida de oleosidade por meio de método fotométrico, e SKIN-pH-Meter® PH905 para medida do pH por meio de método eletrolítico. Após a avaliação as participantes serão

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG, sala 4
Bairro: Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900
UF: PR **Município:** MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4597 **Fax:** (44)3011-4444 **E-mail:** copep@uem.br



Continuação do Parecer: 2.968.234

divididas aleatoriamente em 2 grupos de tratamento, utilizando dois grupos de 20 mulheres cada, o que representará o envolvimento de 40 indivíduos, sendo G1: grupo controle, que usará exclusivamente um veículo de uso tópico convencional a base da cera autoemulsionante Crodabase CR2® (Croda, Reino Unido) e G2): grupo experimental, que usará a formulação elaborada do estudo. Todos os participantes estarão "cegos" em relação ao conteúdo dos produtos. Serão padronizadas as medidas para a determinação da hidratação, oleosidade e pH em 3 regiões da parte volar do antebraço esquerdo (região superior, média e inferior). As áreas equivalentes ao outro antebraço (direito) serão usadas como controles não tratados. As medidas serão efetuadas nos tempos 0 (valor basal) e 28 dias após auto aplicação diária (duas vezes ao dia) de uma quantidade de amostra fixa (1 mL) dos produtos envolvidos no estudo. Será orientado aplicar o produto na região delimitada da face volar do antebraço esquerdo, distribuído suavemente e de maneira uniforme em movimentos circulares durante 15 segundos. Nenhuma terapia tópica ou uso de produtos dermocosméticos serão permitidos por 2 dias antes início e durante a realização do estudo, e os locais medidos não poderão ser lavados com sabonetes ou surfactantes por pelo menos 12 horas antes da realização das medições. Os voluntários serão acomodados em ambiente climatizado e monitorado, por 20 minutos antes do início das medidas, com temperatura variando entre 20 °C a 22 °C, e umidade relativa do ar entre 40 e 60%.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta Folha de Rosto devidamente preenchida e assinada pelo responsável institucional. O cronograma de execução é compatível com a proposta enviada. Descreve gastos sob a responsabilidade do pesquisador. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido contempla as garantias mínimas preconizadas. Apresenta as autorizações necessárias.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá é de parecer favorável à aprovação do protocolo de pesquisa apresentado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Face ao exposto e considerando a normativa ética vigente, este Comitê se manifesta pela aprovação do protocolo de pesquisa em tela.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG, sala 4
Bairro: Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900
UF: PR **Município:** MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4597 **Fax:** (44)3011-4444 **E-mail:** copep@uem.br



Continuação do Parecer: 2.968.234

Outros	carta_resposta_pendencia_documental_cep.pdf	09/08/2018 16:22:14	Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_alterado.pdf	30/07/2018 20:14:26	Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni	Aceito
Outros	Testedepele.pdf	22/07/2018 20:43:05	Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetocompleto.pdf	22/07/2018 20:24:14	Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MARINGÁ, 18 de Outubro de 2018

Assinado por:
Ricardo Cesar Gardiolo
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG, sala 4
Bairro: Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900
UF: PR **Município:** MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4597 **Fax:** (44)3011-4444 **E-mail:** copecp@uem.br

ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de consentimento livre e esclarecido para participação na pesquisa intitulada: **“Avaliação da eficácia *in vivo* de formulação dermocosmética contendo ingredientes naturais”**.

Prezada Senhorita

Gostaríamos de convidá-la a participar da pesquisa intitulada **“Avaliação da eficácia *in vivo* de formulação dermocosmética contendo ingredientes naturais”**, a ser realizada na Universidade Estadual de Maringá (UEM). O objetivo da pesquisa é avaliar em pacientes do sexo feminino os efeitos da aplicação tópica de formulações dermocosméticas para serem utilizadas como veículo em preparações magistrais e investigar sua eficácia *in vivo* em relação aos parâmetros biofísicos (hidratação, oleosidade e pH) da pele humana. Para isto a sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma:

Inicialmente os indivíduos participantes serão divididos aleatoriamente em 2 grupos de tratamento. O primeiro grupo usará exclusivamente uma formulação dermocosmética convencional (creme) para uso tópico. O segundo grupo usará uma formulação dermocosmética contendo ingredientes naturais. Os efeitos das formulações na pele serão avaliados em termos de quantidade de conteúdo de água do estrato córneo, perda de água transepidérmica e medida do pH da pele utilizando os equipamentos de medições Corneometer® CM825, Tewameter® TM 300 e SKIN-pH-Meter® PH905 (Courage + Khazaka Electronic GmbH, Colônia, Alemanha) respectivamente e de acordo com as instruções do fabricante.

As medidas serão efetuadas nos tempos 0 (valor basal) e 28 dias após auto aplicação das formulações com uma quantidade fixa do produto (1mL) na região delimitada na parte volar do antebraço esquerdo em movimentos circulares durante 15 segundos.

Nenhum tratamento tópico ou uso de produtos dermocosméticos será permitida por 2 dias antes do início e durante a realização do estudo no local da aplicação, e os locais medidos não poderão ser lavados com sabonetes ou detergentes por pelo menos 12 horas antes da realização das medições. As voluntárias serão acomodadas em ambiente climatizado e monitorado 20 minutos antes do início das medidas, com a temperatura variando entre 20 °C e 22 °C e a umidade relativa do ar entre 40 e 60%.

Informamos que quanto aos riscos serão tomados todos os cuidados necessários para prevenir qualquer dano ou prejuízo que possa acontecer a você durante esta pesquisa. No entanto, mesmo se tratando de um procedimento não invasivo, rápido e seguro, pode ocorrer risco de hipersensibilidade por algum componente da formulação, sintomas de irritação ou dermatite de contato durante o uso dos produtos. Caso haja a necessidade de assistência médica, você será encaminhada para a unidade de pronto-atendimento mais próxima por um membro da equipe de pesquisa – sem qualquer prejuízo financeiro para a voluntária.

Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa, e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Esclarecemos ainda, que a você não pagará e nem será remunerada por sua participação. Não haverá benefícios diretos para a participante. No entanto o resultado desse presente trabalho estabelecerá bases para uma colaboração frutífera entre a equipe de pesquisa interinstitucional na área da cosmetologia. Avanço científico pela divulgação dos resultados à sociedade por meio de artigos científicos e participação em eventos acadêmicos. Promoção do desenvolvimento tecnológico com inovação realizado em parceria com o setor privado através do desenvolvimento de um produto com pedido de depósito de patente – incentivando a interação universidade-empresa na busca de inovação.

Caso haja necessidade de esclarecimento quanto a maiores informações, dúvidas ou reclamações poderá nos contatar: Prof^a Dr^a Audrey Alesandra Stingenhen Garcia Lonni, Av: Robert Koch, 60, Vila Operária, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas. pelo telefone 43 3371 2452 e 43 99955-868. E-mail: audreylonni@uol.com.br, com o pesquisador Guilherme Carneiro Leal pelo telefone 43 99922-9460. E-mail: guilhermeleal@live.com ou ainda procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá, cujo endereço consta no final deste documento.

O documento é elaborado em duas vias de igual teor, assinada por ambas as partes e um pertence ao participante. Todas as páginas deverão ser rubricadas, conforme resolução CNS 466/12: IV.5 letra d.

Eu, _____ . Portador do RG N° _____, declaro que fui devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura da voluntária
(ou impressão dactiloscópica)

Data

Eu, Guilherme Carneiro Leal, membro da equipe que aplicou o TCLE, declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto de pesquisa supra nominado.

Assinatura do pesquisador

Data

Contato Responsável

(Pesquisador principal):

Guilherme Carneiro Leal.
Mestrando do PPG da UEL em Ciências Farmacêuticas
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Estadual de Londrina
Av: Robert Koch, 60, Vila Operária,
CEP: 86039-440, Londrina – PR
F: +55 (43) 3371-2475

Universidade Estadual de Londrina
LABESC - Laboratório Escola de Pós-Graduação - Sala 14
Campus Universitário - Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380 (PR 445)
Londrina- Pr - CEP: 86057-970
Tel: (43) 3371-5455
E-mail: cep268@uel.br

Contato Responsável

(Pesquisadora responsável):

Profª Drª Audrey Alesandra Stingenhen Garcia Lonni
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Estadual de Londrina
Av: Robert Koch, 60, Vila Operária,
CEP: 86039-440, Londrina – PR
F: +55 (43) 3371-2475
C: +55 (43) 99955-868.
E-mail: audreylonni@uol.com.br

Contato Instituição Co-participante

COPEP/UEM
Universidade Estadual de Maringá
Av. Colombo, 5790. UEM-PPG-sala 4
CEP 87020-900. Maringá-Pr