



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANELLYSE FERREIRA CARACIOLO

**ÓLEO DE CATOLÉ: DETERMINAÇÃO DO EHL, AÇÃO
PROMOTORA DE ABSORÇÃO DE FÁRMACOS E EFEITO
HIDRATANTE NA PELE HUMANA**

Recife – PE, 2016.

ANELLYSE FERREIRA CARACIOLO

**ÓLEO DE CATOLÉ: DETERMINAÇÃO DO EHL, AÇÃO
PROMOTORA DE ABSORÇÃO DE FÁRMACOS E EFEITO
HIDRATANTE NA PELE HUMANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Produção e Controle de Medicamentos

Orientadora: Profa. Dra. Leila Bastos Leal

Co-orientador: Prof. Dr. Davi Pereira de Santana

Recife – PE, 2016.

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

C257o Caraciolo, Anellyse Ferreira.
Óleo de catolé: determinação do EHL, ação promotora de absorção de fármacos e efeito hidratante na pele humana / Anellyse Ferreira Caraciolo. – 2016.
89 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Leila Bastos Leal.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2016.
Inclui referências e anexos.

1. Óleo. 2. Pele. 3. Hidratação. 4. Ácidos graxos. 5. Reologia. I. Leal, Leila Bastos (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2016-159)

ANELLYSE FERREIRA CARACIOLO

**ÓLEO DE CATOLÉ: DETERMINAÇÃO DO EHL, AÇÃO PROMOTORA DE
ABSORÇÃO DE FÁRMACOS E EFEITO HIDRATANTE NA PELE HUMANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em: 26/02/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Leila Bastos Leal (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Davi Pereira de Santana (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Kátia Aparecida da Silva Aquino (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Reitor

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

Vice – Reitor

Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

Diretor de Ciências da Saúde – CCS

Nicodemos Teles de Pontes Filho

Vice – Diretor do Centro de Ciências da Saúde - CCS

Vânia Pinheiro Ramos

Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Antonio Rodolfo de Faria

Vice – Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Dalci José Brondanni

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Almir Gonçalves Wanderley

Vice - Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Rafael Matos Ximenes

À minha Guerreira, minha Mãe!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida, por não me desamparar em cada escolha que faço.

Aos meus pais, Maria Zilma e José Albérico, especialmente a minha mãe, pelo ensinamento de vida, por apoiar minhas escolhas, mesmo que elas me levem para longe de casa, por entender minha ausência, por sempre estar de braços abertos me esperando voltar. Amo vocês.

À minha irmã, Annyelli por ser minha companheira de vida desde o seu nascimento e me apoiar nas *decisões*, te amo.

Aos meus familiares, tias, tios, primas e primos, que torceram por mim em cada vitória especialmente aqueles que contribuíram para essa conquista se realizar, entre elas minhas primas-irmãs (Maria Eduarda, Vitória, Eveline, Carol, Emanuelle, Layse, Priscylla e Cláudia) que muitas vezes são conforto.

À Prof^a. Dr^a. Leila Bastos Leal, minha orientadora, pelos ensinamentos repassados e pelas oportunidades de aprender mais, pela paciência comigo e não desistir de mim nessa caminhada.

Ao Prof. Dr. Davi Pereira de Santana, meu (Co) Orientador, pelo sim dado e confiança depositado na minha pessoa.

Às minhas amigas, Anne Dornelas, Renata, Amanda, Karol, Marcela, Evelyne, por torcerem por mim sempre e compreenderem meu sumisso e pelo ombro amigo sempre que preciso, vocês são pra toda vida.

Aos meus amigos da faculdade, Marciana, Marcelle, Jailma, Tatiana, Silvandro, Edvan, Wesley, Sebastião, Amaury.

Aos novos amigos Daniel, Karine, Ellison pelo apoio e amizade nessa caminhada, espero que essa amizade dure por muitos anos.

À Gregório pelo apoio e pela amizade.

À Thalita pelo companheirismo e amizade, espero que nossa caminhada juntas, não termine por aqui.

A todos do NUDFAC, pelo apoio, pela convivência diária, em especial, Welligton e Maíra, pela ajuda e pelas risadas garantidas. A Giovâna e Isabelly por me passarem parte do conhecimento de vocês para conclusão desse projeto. A Juliana pela ajuda com ZetaSizer.

À Mariana pela ajuda nas cinéticas.

Ao Prof. Dr. Danilo Bedor, Alice, Zênia, Marília, Daniel e Diêgo, pela contribuição nos ensaios analíticos.

À Cícero, pelo fornecimento do coco Catolé.

À professora Kátia Aquino do Departamento de Engenharia Nuclear e Lindomar pela ajuda com RMN e CG.

Ao DQF pelas análises de RMN e CG.

À Victor pela força na extração do óleo, meu muito obrigada.

Ao CETENE, pela contribuição na Análise Térmica, em especial Adriana com sua atenção para comigo.

À Prof^a. Mirian Camargo do LAPTOX pelo fornecimento da pele de cobra.

Aos voluntários do ensaio clínico.

Aos professores e funcionários do PPGCF – UFPE.

Ao Capes pela concessão da bolsa.

“A beleza não está na partida, nem na chegada,
mas na travessia.” (Guimarães Rosa)

RESUMO

O coco catolé (*Syagrus cearensis*) é um fruto de uma palmeira típica do Nordeste. Deste fruto, é extraído um óleo que contém ácidos graxos saturados e insaturados, que promovem a hidratação da pele por possuírem propriedades emolientes. Sendo assim, o óleo extraído do catolé apresenta-se como um bom candidato a compor preparações cosméticas. Tendo em vista esse potencial, este trabalho visou à caracterização desse óleo, sua utilização no desenvolvimento de emulsões, avaliação do seu potencial promotor de absorção e avaliação da ação hidratante na pele humana. Na etapa de caracterização físico-química foram realizadas análises do índice de acidez, saponificação, peróxidos, iodo e material insaponificável. As formulações desenvolvidas foram avaliadas quanto ao pH, viscosidade, reologia, espalhabilidade, teste de centrifugação e aferição do tamanho de gotículas. A avaliação do potencial do óleo do coco catolé como promotor de permeação foi realizada através da comparação entre a quantidade de lapachol e metronidazol permeada a partir de formulações contendo diferentes concentrações do óleo. O óleo do coco catolé mostrou-se eficiente enquanto promotor de permeação de fármacos hidrofílicos e lipofílicos e demonstrou efeito hidratante comparável ao óleo de amêndoas doce (OAD), óleo de reconhecida ação e utilização em preparações cosméticas destinadas a hidratação corporal.

Palavras-chave: Óleo. Pele. Hidratação. Ácidos graxos. Reologia. Cosméticos.

ABSTRACT

The *catolé*coconut (*Syagruscearensis*) is a fruit of a palm tree typical of the Brazilian Northeast. An oil containing saturated and unsaturated fatty acids that promote skin hydration by having emollient properties can be extracted from this fruit. This extracted oil presents itself as a good candidate for cosmetic preparations. Given this potential, this study aimed: to characterize physico-chemically the *catolé*coconut oil; to incorporate it into emulsions; to evaluate the skin permeation potential *in vitro*; and to conduct a clinical trial to evaluate the moisturizing effects on human skin. During the characterization step analyses were performed to determine the acid number, saponification, peroxidase, iodine values and also to ascertain the percentage of unsaponifiable material contained in the oil. The developed formulations were evaluated based on pH, viscosity, rheology, spreadability, droplet size and also by the centrifugation test. The *catolé*oil evaluation as a permeation enhancer was performed by comparing the amount of metronidazole and lapachol permeated using formulations containing different concentration of *catolé*oil. As a result, it was observed that the *catolé*coconut oil proved to be a good permeation promoter for either hydrophilic or lipophilic drugs and also it has demonstrated a moisturizing effect comparable to almond oil (OAD), an oil with recognized efficacy commonly used in cosmetic preparations for body hydration.

Keywords:Oil. Emulsion.Skin.Hidration.Fattacids. Rheology. Cosmetics

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação esquemática da pele	28
Figura 2 –Padrão <i>brick&mortar</i> do estrato córneo	28
Figura 3 – Representação esquemática da Células de Franz	32
Figura 4 -Pele da cobra <i>Boa constrictor</i>	33
Figura 5 –Palmeira do óleo de coco Catolé	35
Figura 6 – Flores e Frutos do óleo de coco Catolé	35
Figura 7 - Frutos do óleo de coco Catolé	36
Figura 8 –Representação de Emulsões simples e múltiplas	37
Figura 9 - Prensa manual	39
Figura 10 – Aparelho <i>corneometer</i>	49
Figura 11 - Sonda <i>tewarmeter</i>	49
Figura 12 - Medição utilizando o <i>corneometer</i>	50
Figura 13 – Medição utilizando o <i>tewameter</i>	51
Figura 14 –Espectro do RMN do óleo do Catolé	55
Figura 15 - Curva DTG do óleo do coco catolé	58
Figura 16 –Curva do DSC do óleo do coco catolé	58
Figura 17 –.Cromatograma do óleo do coco catolé	59
Figura 18 - Reograma da espalhabilidade da formulação 1	63
Figura 19 –.Reograma da espalhabilidade da formulação 2	63
Figura 20 – Reograma da espalhabilidade da formulação 3	64
Figura 21 –Microfotografia da formulação 1	65
Figura 22 -.Microfotografia da formulação 2	65
Figura 23 - Microfotografia da formulação 3	66
Figura 24 –.Reogramas da formulação 1	67
Figura 25 – Reogramas da formulação 2	67
Figura 26 - Reogramas da formulação3	68
Figura 27 - Perfil de liberação <i>in vitro</i> das formulações (lapachol)	70
Figura 28 – Perfil de liberação <i>in vitro</i> das formulações (MTZ)	71
Figura 29 -.– Perfil cinético de permeação do lapachol	72
Figura 30 –.Perfil cinético de permeação do MTZ	73
Figura 31 –Gráfico do conteúdo aquoso do estrato córneo após 2 horas	74
Figura 32 –Gráfico da taxa de evaporação de água da superfície da pele	75
Figura 33 - Gráfico do conteúdo aquoso do estrato córneo após 20 dias	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –Similralidade pele de cobra e humana	33
Tabela 2 –Fórmulas utilizadas no RMN	40
Tabela 3 –EHL das emulsões preparadas	42
Tabela 4 –Componetes das formulações	43
Tabela 5 –Constituintes das formulações contendo lapachol	46
Tabela 6 –Constituintes das formulações contendo MTZ	47
Tabela 7 –Caracterização físico-química do óleo do coco catolé	55
Tabela 8 –Resultados do EHL	56
Tabela 9 –Resultado tamanho de partículas das emulsões	59
Tabela 10 –Caracterização físico – química do `óleo	60
Tabela 11 -Ácidos graxos majoritários	60
Tabela 12 –Valores dos pHs das emulsões	61
Tabela 13 –.Valores médios das viscosidades aparentes	66
Tabela 14 –.Quantidade liberada lapachol	70
Tabela 15 - Quantidade permeada após 24 horas (lapachol)	72
Tabela 16 -Conteúdo aquoso do EC das regiões avaliadas	73
Tabela 17 -Taxa de evaporação de água da superfície da pele	74
Tabela 18 -Conteúdo aquoso do estrato córneo após 20 dias	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/O – água em óleo

ANOVA – análise de variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CDF – Células de Difusão de Franz

CLAE-UV – Cromatografia Líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

EC – Estrato córneo

EHL – Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo

F. BRAS – Farmacopéia Brasileira

FDA – *Food and Drug Administration*

IFA – Insumo Farmacêutico Ativo

IV – infravermelho

LAP – Lapachol

LD – Limite de Determinação

LQ – Limite de quantificação

O/A – óleo em água

OMS – Organização Mundial de Saúde

PF – Ponto de Fusão

RE – Resolução

RMN ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de prótons

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

UV – ultravioleta

TM – sonda tewarmeter

MTZ – metronidazol

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

μg – micrograma

μL – microlitro

μm - micrometro

cm – centímetro

g – grama

h – hora

J – fluxo

Kg - quilograma

kHz – quilo-hertz

K_p – coeficiente de permeabilidade

L – litro

mg – miligrama

min– minuto

mL– mililitro

mm – milímetro

mN - miliNewton

mV – milivolts

nm - nanômetro

° - graus

°C – graus Celsius

Pa.s – Pascal segundo

pH – potencial hidrogeniônico

r^2 – Coeficiente de determinação

RPM – rotação por minuto

s – segundo

T - temperatura

v – volume

η – viscosidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	22
2 OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3 REVISÃO DA LITERATURA	27
3.1 A PELE.....	27
3.1.1 Hidratação da pele	28
3.1.2 Penetração cutânea de fármacos	29
3.1.3 Estudos de liberação e permeação cutânea <i>in vitro</i>	31
3.2 ÓLEO DO COCO CATOLÉ	34
3.3 EMULSÕES	36
4- MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 - COLETA E EXTRAÇÃO DO ÓLEO	39
4.2 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO	40
4.2.1- Ressonância Magnética Nuclear protônica	40
4.2.2 – Análise Térmica	40
4.2.3 -- Cromatografia gasosa	41
4.3 - DETERMINAÇÃO DE EHL DO ÓLEO	41
4.4 –DESENVOLVIMENTODAS FORMULAÇÕES	42
4.5 – ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA.....	43
4.5.1 – Avaliação Organoléptica.....	43
4.5.2- Sentido de fase.....	43
4.5.3- Centrifugação	43
4.5.4- Determinação do pH.....	44
4.5.5- Determinação da espalhabilidade	44
4.5.6- Análise do tamanho das gotículas	44
4.5.7- Estudo da estabilidade física por determinação do comportamento reológico	44
4.6- AÇÃO PROMOTORA DE ABSORÇÃO DE FÁRMACOS LIPOFÍLICOS E HIDROFÍLICOS	45
4.6.1- Estudo de liberação e permeação <i>in vitro</i>	45
4.6.2- Cálculo do fluxo (J) e do coeficiente de permeabilidade (Kp).....	46
4.6.3-Lapachol:	46
4.6.4-Metronidazol.....	47
4.7 ESTUDO DE HIDRATAÇÃO.....	48
5- RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	54
5.1 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO – QUÍMICA DO ÓLEO	54
5.1.1- Ressonância Magnética Nuclear protônica	54
5.1.2- Análise Térmica.....	57
5.1.2.1-Termogravimetria/ DSC	57
5.1.3 -- Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/MS)	59
5.2 –DETERMINAÇÃO DO EHL DO ÓLEO.....	60
5.3 – DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES	60
ESTUDO DA ESTABILIDADE ACELERADA	60

5.3.1– Avaliação organoléptica	60
5.3.2– Sentido de fase	61
5.3.3– Centrifugação	61
5.3.4– Determinação do pH	61
5.3.5– Determinação da espalhabilidade	61
5.3.6– Análise do tamanho de gotículas	64
5.3.7 – Estudo da estabilidade física por determinação de comportamento reológico	66
5.4- AÇÃO PROMOTORA DE ABSORÇÃO DE FÁRMACOS LIPOFÍLICOS E HIDROFÍLICOS	69
5.5 – ESTUDO DE HIDRATAÇÃO	73
CONCLUSÃO	78
PERSPECTIVAS.....	80
REFERÊNCIAS	82
ANEXOS	88
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	88

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A pele é o órgão de maior dimensão no corpo humano, ela ocupa cerca de 16% do peso corporal, determina a aparência, a etnia, o sexo e proteção a todos os órgãos do humano. É considerada uma barreira resistente e semi-permeável (OLIVEIRA, 2009).

Esse tecido cutâneo é a interface entre o meio ambiente e o corpo humano sendo o estrato córneo, o responsável pela proteção impedindo a invasão de micro-organismos, agentes tóxicos e também de manter limitada a perda de água (HARDING, 2003)

A pele é dividida em quatro partes tissulares: o estrato córneo, epiderme, derme e hipoderme. O estrato córneo (EC) funciona como uma barreira física para que certas substâncias não tenham contato com a epiderme. Esta encontra-se entre o estrato córneo e a derme, tem uma espessura de 50 a 100 μm . A derme é composta por fibras e poucas células, com espessura entre 2000 a 3000 μm . A hipoderme, de acordo com alguns autores, não é verdadeiramente considerada uma parte da estrutura celular da pele, apresenta um aspecto diferente das outras camadas, frouxo, solto, branco, fibroso, contendo vasos sanguíneos e linfáticos, glândulas de secreção e nervos cutâneos (PATHAN, 2009).

O teor de água presente no estrato córneo e os lipídios encontrados na superfície da pele formam um equilíbrio que é muito importante para manter o aspecto da pele e suas funções reguladas. Esse conjunto, forma um filme hidrolipídico na pele, que atua como uma barreira de proteção. Caso esse equilíbrio seja rompido, a pele torna-se seca (SATOR, 2003). A hidratação a nível fisiológico associado ao teor de lipídios a pele fica mais resistente à deformação (WISSING, 2002).

Os produtos conhecidos como hidratantes tem como função hidratar a pele, geralmente buscam regular o teor de água do estrato córneo, dependendo da propriedade barreira e do gradiente de água através do EC (estrato córneo) (ROBERTS, 2008)

Os agentes hidratantes geralmente são veiculados em emulsões que são caracterizados por sistemas termodinamicamente instáveis, onde há mistura de dois líquidos imiscíveis, dispersos entre si com presença de gotículas ou cristais líquidos (ZANIN, 2002).

Os óleos vegetais são usualmente utilizados em emulsões cosméticas devido as suas propriedades, entre elas, baixo peso molecular e viscosidade, são menos oclusivos que os óleos minerais, apresentam boa penetração cutânea, boa compatibilidade com a pele, fonte de ácidos graxos essenciais e vitaminas (CORTE, 2006). Em virtude destas características os óleos vegetais tornam-se bons candidatos à utilização em preparações cosméticas e dermatofarmacêutica, podendo agir como promotor de permeação (STORPIRTIS, 2009).

Na região Nordeste a produção de óleo vegetal tem um grande potencial, que ainda deve ser explorado, principalmente na região semi-árida (MAIA,2010). Dentre eles podemos destacar o óleo de catolé (*Syagrus cearenses*) extraído de uma palmeira típica do Nordeste muito encontrada nos estados do Ceará, Pernambuco, Paraíba e Alagoas. Este óleo, extraído dos frutos, pode ser utilizado com fim medicinal, na culinária e na produção de dermatoprodutos (SEIXAS, 2011). A presença de ácidos graxos saturados e insaturados na constituição natural desses óleos vegetais conferem propriedades emolientes quando incorporados em dermoformulações.

Este trabalho tem como objetivo caracterizar físico – quimicamente o óleo do coco catolé, desenvolver emulsões, avaliar seu potencial de promoção da permeação cutânea e realizar estudo clínico para avaliação dos seus efeitos hidratantes.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar emulsões contendo óleo do coco catolé quanto ao seu potencial hidratante e capacidade deste óleo de atuar como promotor de permeação.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar as características físico-químicas do óleo de catolé;
- Determinar o equilíbrio hidrófilo –lipófilo (EHL);
- Desenvolvimento e caracterização das emulsões através de parâmetros de viscosidade, reologia, espalhabilidade, microscopia óptica, resistência à centrifugação, determinação de pH;
- Avaliar o óleo de catolé como promotor de permeação cutânea de fármacos;
- Estudo clínico para avaliação dos efeitos hidratantes do óleo de catolé na pele humana.

REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A pele

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, um órgão de revestimento complexo, é dividida em três camadas: epiderme - camada superior, derme - camada intermediária e a hipoderme - a camada mais profunda. Suas principais funções são proteção, pigmentação, queratogênese, nutrição, termoregulação, perspiração, transpiração, absorção e defesa. Estas estruturas encontra-se na figura 1 (BATISTELA et al., 2007)

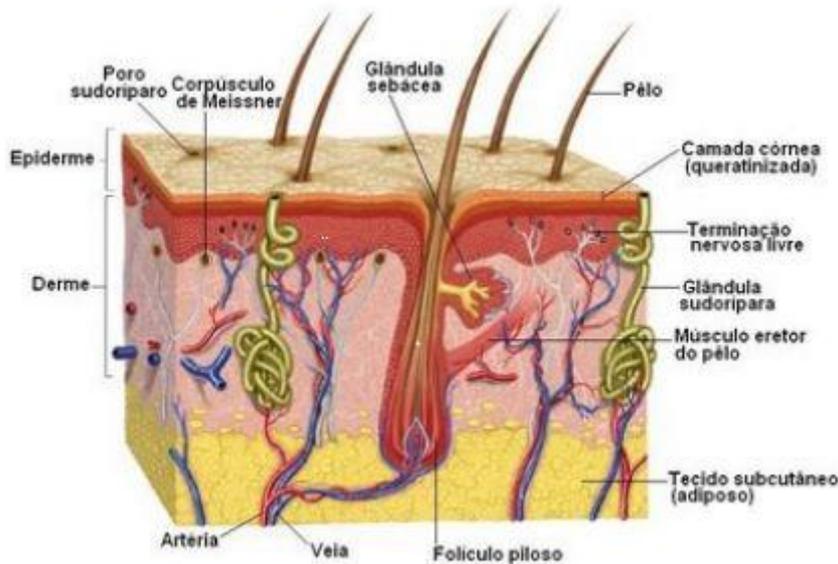
Na epiderme encontramos o estrato córneo que é constituída de células mortas, queratinizadas que funciona como uma barreira superficial da pele, xenobiótica e também controla a permeação da pele (SILVA, 2010). A epiderme enquanto camada superior da pele é avascular e seus nutrientes são recebidos através das camadas subjacente e inferior a derme (JESUS, G.S de. et al., 2006).

A hipoderme é composta de tecido subcutâneo e adiposo. (SILVA, 2010)

O tecido cutâneo reflete condições físicas e psicológicas como saúde, diferenças étnicas e culturais, idade, daí a importância de manter a pele íntegra para uma melhor defesa do organismo contra possíveis alterações tais como: Traumatismos térmicos e mecânicos, de radiação e químicos, situações em que o ser humano esta exposto diariamente (RESENDE et al., 2005).

Acreditava-se que a barreira cutânea era apenas uma simples capa que separava o meio externo do meio interno, até a década de 60 definia-se que a barreira cutânea estava na parte superior da camada granulosa e não formada pelo estrato córneo (ADDOR et al., 2010). Assim, o estrato córneo (barreira cutânea) é considerado de suma importância porque regula a perda de água e eletrólitos bem como a entrada de substâncias externas na pele. É formado por células córneas, ligadas por lipídios intercelulares e tem organização lamelar. Essa organização é conhecida como modelo tijolo e cimento, mostrado na figura 2 (CESTARI, 2005).

Figura 1: Representação esquemática da pele com suas respectivas camadas e apêndices.



Fonte: Disponível em:

<http://www.efdeportes.com/efd192/os-efeitos-do-acido-hialuronico.htm>

Figura 2: Padrão brick&mortar do estrato córneo

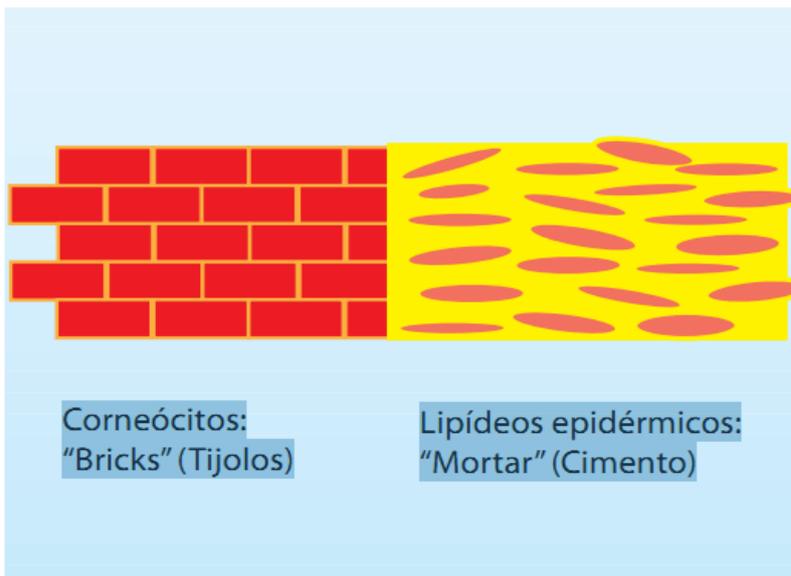


FIGURA 1: Padrão brick & mortar do estrato córneo
(barreira cutânea)

Fonte: Adaptada por Addoret al. 2010

3.1.1 Hidratação da pele

Para que nossa pele funcione adequadamente, ela necessita de limpeza e hidratação cutânea, a limpeza para a remoção de debris externos, micro – organismos e secreções cutâneas, a hidratação para manter o equilíbrio cutâneo de água, que é essencial para o bom funcionamento da pele e para manter uma aparência normal deste grande órgão. O nível de

hidratação da pele influencia, em cada, passo na formação do estrato córneo, maturação, esfoliação, formação de corneócitos e lipídeos organizados, componentes de ligação de água (ROBERTS, 2008).

Na barreira cutânea existem dois componentes de função: a matriz proteica celular (trama de ceracínocitos entrelaçados, dispostas em camadas, limitadas pelos corneócitos) e a matriz intercelular (composta por dupla camada lipídica). Nestes dois compartimentos existem outras partículas químicas como: Aminoácidos, ácido carboxílico pirrolidona, lactato, ureia, sódio, potássio, amônia, ácido úrico, glucosamina, creatinina, citrato, cálcio, magnésio, fosfato, cloreto, açúcar, ácidos orgânicos, peptídios e outras substâncias e ceramidas, colesterol, sulfato de colesterol, ácidos graxos livres, respectivamente que são importantes e ajudam a formar estruturas essenciais para a manutenção da hidratação da pele. Existem dois mecanismos na hidratação da pele: o fator de hidratação natural (FHN) que juntamente com os lipídeos intercelulares retém água impedindo evaporação para o meio e os lipídeos que são estruturas bipolares que tem a função de controlar a permeabilidade e as bombas iônicas onde esses oligoelementos vivem em interação constante estabelecendo um equilíbrio eletrólito primaz contribuindo para uma hidratação adequada (COSTA, 2009).

A perda de água da pele é contínua e geralmente é feita por evaporação para o meio externo, sua regulação é mantida pela barreira, que deve estar intacta para garantir esse controle de perda de fluxo hídrico (ROWE, 2013).

A hidratação é um fator determinante para a absorção pericutânea, os principais meios de condicionamento da mesma são: os níveis de umidade do estrato córneo (EC), a perda de água transepidermal (TEWL), a elasticidade da pele e a renovação celular do EC (Estrato córneo). A regulação da água no estrato córneo pode ser facilitada pela penetração e retenção de ingredientes através do uso de produtos aplicados topicamente, como hidratantes e/ou umectantes. Este último restaura a perda normal de água do estrato córneo agindo como uma barreira que impede que agentes externos danifiquem o estrato córneo e cause a perda de água. Geralmente esses agentes são parcialmente ou totalmente oclusivos. Dentre os produtos oclusivos encontramos os emolientes (óleos que se espalham facilmente sobre a pele), por isso seu uso é bem intensificado (ROBERTS, 2008).

3.1.2 Penetração cutânea de fármacos

A permeação cutânea de fármacos na pele é difícil, além de depender das propriedades físico-química dos fármacos, também deve-se levar em consideração seu comportamento quando é incorporado em um veículo farmacêutico. A permeação pode ocorrer através de

diferentes mecanismos entre eles, otranscelular que ocorre através das células do estrato córneo (EC), intercelular que é através dos lipídios do estrato córneo, além dotranspendicularem menor grau ,através das glândulas e folículos. Leva-se em consideração também a concentração de fármacos, área de aplicação, afinidade do fármaco com a pele, hidratação cutânea, tempo e intensidade de aplicação, local de aplicação e a permanência do medicamento na pele (CHORILLI et al., 2007).

A permeabilidade da pele é bem seletiva e ligada as condições físico - químicas naturais, viscosidade, apêncides da pele, ligações de colágeno, idade, doenças (JESUS, et al., 2006).

Para melhor penetração de fármacos podem ser utilizados promotores de permeação, que são compostos químicos, farmacologicamente inativos que permeiam e interagem com constituintes do estrato córneo, podendo incrementa a atividade termodinâmica do fármaco, aumentando assim o seu fluxo de penetração na pele. O promotor de penetração ideal é aquele que é inerte, não tóxico, não irritante, de ação imediata, de ação reversível, não alérgico, compatível quimicamente e fisicamente com o fármaco e excipientes empregados na formulação, aceitável cosmeticamente, inodoro, insípido e incolor, apresentar boas propriedades solventes e deve ser de fácil acesso (MARTINS; VEIGA, 2002).

Os promotores químicos tem o poder de alterar a composição, propriedades físico químicas, a organização dos lipídios e proteínas do estrato córneo, fazendo com que sua função barreira seja diminuída e promovendo ao fármaco uma difusão adequada, e quando removidos, devem permitir que essa barreira da pele rapidamente recupere suas propriedades fisiológicas. Os promotores físicos podem agir por diferentes mecanismos que visam permear a liberação do fármaco modificando transitoriamente a propriedade de barreira cutânea (SILVA, 2010).

Esse fluxo através da pele que o fármaco deve seguir é influenciado pelo coeficiente de partição e pela solubilidade em água, molécula muito polar e grande em tamanho tem dificuldades nessa penetração. Para serem absorvidos mais facilmente, os fármacos devem ter baixo peso molecular, ou seja, inferior a 500 Da, sua solubilidade deve ser adequada em meio hidrofílico e hidrofóbico; a quantidade a penetrar depende também da forma farmacêutica utilizada. Vale salientar que fármacos que apresentam uma hidrofilia elevada, quando incorporados a formulações que são destinadas a permeação da via cutânea, certamente terá dificuldade em penetrar no estrato córneo e se apresentar lipofilia elevada poderá ficar retido. O coeficiente de partição deve ser entre eles (SILVA, 2010; LOURENÇO, 2013).

A penetração cutânea é a principal etapa na absorção cutânea, por isso é importante a utilização de métodos que sejam efetivos e seguros no aumento da penetração de substâncias através da pele (CORNELIO, 2007).

Na maioria das vezes o transporte do fármaco acontece por difusão passiva (HADGRAFT, 2001). Esse processo pode ser descrito pela primeira lei de Fick

$$J = \frac{KD\Delta C}{h} \quad (1)$$

Onde, J é o fluxo por unidade de área, K o coeficiente de partição pelo veículo, D o coeficiente de difusão na pele, ΔC (espessura da membrana) diferença da concentração através da pele e h o comprimento do caminho de difusão, essa equação simplificada fica:

$$J = K_p \times \Delta C \quad (2)$$

Onde, $K_p = (KD/h)$ é o coeficiente de permeabilidade cuja unidade é dada em (cm/h) unidades de velocidade, exprime uma taxa constante e heterogênea que codifica características particionais e difusionais.

3.1.3 Estudos de liberação e permeação cutânea *in vitro*

Para os estudos de liberação e permeação cutânea utilizam-se técnicas *in vitro* e *in vivo*. Na técnica *in vitro* o método utiliza células de difusão de Franz representada na figura 3, que foram introduzidas pelo Dr. Thomaz Franz em 1975 e desde então são utilizadas para vários estudos de absorção cutânea tanto para formulações tópicas quanto transdérmicas, cosméticos e pesticidas e consiste de um líquido receptor e uma fase doadora que são separadas por uma membrana artificial sintética ou por pele humana ou de diferentes animais (SASSON, 2006).

Esse método é aprovado pelo *Food and Drugs Administration (FDA)* e tem como vantagem a aplicação da primeira lei de Fick na sua forma mais simples. A célula de Franz representada na figura, é composta de um compartimento doador e um receptor, esse é preenchido com uma solução receptora que tenha condição sink que significa ter uma condição de não saturação do sistema dinâmico, ou seja, em meio de dissolução com concentração do fármaco equivalente a até 10% da concentração de saturação. Geralmente é montado um sistema com seis células individuais conectadas a um banho termostatizado sob

agitação magnética por um período de 12 horas para observar o perfil de uma cinética de liberação e 24 horas para um perfil cinético de permeação (SILVA, 2010).

Figura 3: Imagem da célula de difusão de Franz.



Fonte: Autoria própria

No caso de membranas biológicas, nos estudos de cinéticas seriam ideais peles humanas oriundas de cirurgias plásticas, no entanto este material tem uma difícil aquisição, alto custo e além de dificuldade de armazenamento, tornando seu uso limitado. Como alternativa é utilizado pele de animais, membranas sintéticas e culturas tridimensionais. A pele de orelha de porco é utilizada para estudos de permeação cutânea *in vitro*, por sua similaridade fisiológica, histológica, densidade de folículos pilosos e características bioquímicas com a pele humana. Para avaliação da permeação cutânea de fármacos no estrato córneo (EC), pode ser indicado o uso da pele de cobra (figura 4), que são compostas por estrato córneo puro desprovido da epiderme e dos folículos pilosos, pode ser obtido sem a morte do animal, visto que a cobra pode trocar de pele a cada 3 meses e por não conter tecido vivo é de mais fácil armazenamento (PRAÇA, 2010).

Na tabela 1 podemos observar as similaridades entre a pele de cobra e o EC (estrato córneo humano, na composição lipídica existe presença de colesterol, ácidos graxos livres, glicoceramidas e fosfolipídios em ambas as peles.

Tabela 1: Similaridade da pele da cobra com a pele humana

	Pele da cobra	Pele Humana
Espessura do tecido	10 a 20 μm	13 a 15 μm
Estrutura proteica	queratina do tipo α e β	queratina do tipo α e β
Composição lípidica	2,0 a 6,5%	6,0%

Fonte: (Baby, 2008)

A estrutura da pele de cobra apresenta uma camada de beta-queratina mais externa, uma intracelular de alfa-queratina e uma camada lipídica intercelular (camada intermediária) e uma terceira camada de alfa-queratina mais interna, a camada intermediária é subdividida em três subcamadas multilamelares com células cornificadas ao redor dos lipídios intercelulares (depósito de lipídios) tida como a maior barreira para a penetração da água (NUNES, 2005).

Figura 4: Pele de cobra *Boa constrictor*

Fonte: Autoria própria

Existe certa similaridade na composição lípidica da pele da cobra e do extrato córneo humano, sendo encontradas em ambas as peles, alta porcentagem de lipídios neutros e ácidos gordos em maior predominância, o fluxo de evaporação de água também é bastante semelhante, embora o da cobra dependa das condições do habitat (ITOH, 1990).

3.2 Óleo do coco Catolé

Representantes da família *Arecaceae* ocupam um espaço importante na composição da flora na faixa costeira e interior na região nordeste do Brasil; com registro de 18 espécies de palmeiras incluindo alguns presentes no estado de Pernambuco, o conhecimento sobre essas espécies em Pernambuco é quase que inexistente sendo restrito a informações taxonômicas e geográficas, entre elas encontramos a *Syagrus cearenses* que fornecem óleos, ceras e fibras e frutos, são utilizadas no âmbito medicinal, alimentício, tecnológico e comercial (RUFINO, et al.; 2008).

Essa planta corre o risco de entrar em breve na lista de plantas ameaçadas de extinção, o fruto da *Syagrus Cearensis* é bem apreciado por crianças, adultos, aves, répteis e bovinos, seu período de frutificação ocorre entre o mês de julho a janeiro, suas folhas são utilizadas para cobertura de casas ou produção de fibras que são utilizadas artesanalmente para fazer balaios, chapéus, peneiras, entre outros, sua amêndoa é utilizada na alimentação e também se extrai um óleo que tem composição parecida com o óleo do babaçu.

O catolé é um fruto levemente ácido, considerado com boa palatabilidade e apresenta uma boa quantidade de fibras (FREIRE, 2013). Nas suas amêndoasa quantidade de lipídeos encontrados é superior a 60%, o coco catolé é rico em gorduras e possui um leite rico em micronutrientes e macronutrientes. É cultivado no nordeste em Pernambuco e na Bahia, sua árvore tem cerca de 3 a 5 metros de altura como pode ser observado na figura 5, sua flores são pequenas reunidas em cachos que surgem de maio a agosto, figura 6, embora floresça e frutifique todo ano, seu amadurecimento se dá no período de outubro a dezembro, sua produção média anual é de 2.000 kg/ha de frutos, 35 a 38% dessa amêndoa, figura 7, é rica em óleo vegetal, cresce em clima quente e úmido (SILVA, 2014)

O óleo do coco catolé é utilizado tanto na culinária quanto em cosméticos, terapeuticamente é utilizado para tratamento do estômago, erisipela, diarreia e também como diurético (ROSA, 2015).

Figura 5: Palmeira do óleo de coco catolé



Fonte: disponível em: http://www.umpedeque.com.br/bkp/site_umpedeque/arvore.php?id=703

Figura6: Flores e Frutos do Palmeira do coco catolé



Fonte: disponível em <http://www.alumac.com.br/flora.html>

Figura 7: Fruto da Palmeira do coco catolé



Fonte: Autoria própria

3.3 Emulsões

Define-se emulsões como dois líquidos imiscíveis, em que um deles está finamente dividido e distribuído, na forma de gotículas no outro, que é estabilizado pela presença de agentes emulsionantes (AULTON, 2005).

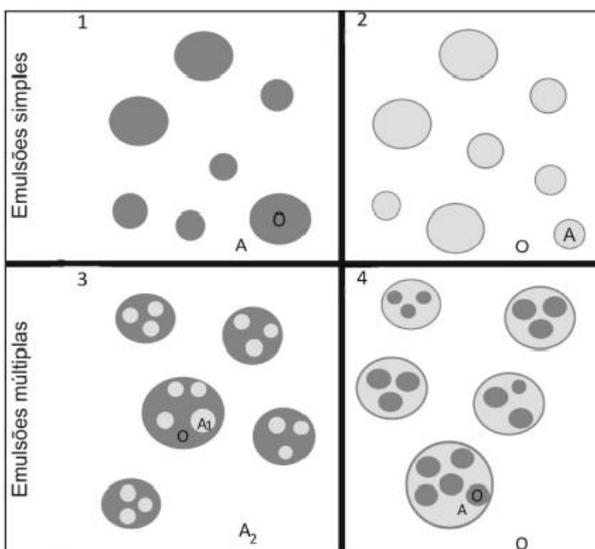
A fase dispersa é a fase interna e a fase dispersante é a fase externa, podem existirem emulsões onde a fase interna é oleosa e a fase externa é aquosa (o/a) já o inverso onde a fase interna é aquosa e a externa é a oleosa (a/o). Para a emulsão ficar estável é necessário o uso de um emulgente (ANSEL, 2007).

Também existem as emulsões múltiplas onde esta contido em uma fase dispersa gotículas de uma outra fase dispersa que é separada fisicamente por uma fase dispersa com composição diferente, elas podem ser do tipo óleo, água, óleo (o/a/o) ou água, óleo, água (a/o/a) que podem ser obtidas por emulsificação por inversão de fase, emulsificação em uma etapa e emulsificação em duas etapas, figura 8. Esses sistemas apresentam algumas vantagens, tem capacidade de encapsular ativos cosméticos ou fármacos, permite veicular componentes que são incompatíveis e instáveis, proteção da substância quanto a oxidação, liberação modificada das substâncias ativas (CHORILLI, 2009).

É uma preparação que é muito utilizada em cosméticos, mas também é utilizado por outras vias, podendo ser incorporados ativos hidrossolúveis e/ou lipossolúveis (PIANOVISK, 2008)

No desenvolvimento de uma emulsão é importante seu aspecto visual, porém a estabilidade e suas propriedades físicas é de suma importância. Suas instabilidades podem ser do tipo cremeação, floculação e coalescência, o que pode acontecer tanto por fatores intrínsecos quanto extrínsecos, tamanho dos glóbulos, composição da formulação, viscosidade, valor do pH, volume de fases, presença de eletrólitos, processo de fabricação, velocidade de agitação e propriedades do filme interfacial (LIMA et al., 2008). As emulsões são muito utilizadas pelo fato de serem relativamente baratas, tem apresentação excelente e formam uma película protetora sobre a pele (SASSON, 2006).

Figura 8: Emulsões simples e múltiplas



Fonte: (PEREIRA; GARCIA-ROJAS, 2015)

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta e extração do óleo

A área de coleta do coco catolé esta localizada no município de São José do Belmonte (PE) a 473Km do Recife em uma propriedade rural. São José do Belmonte tem uma altitude de 486m, tropical semi-árido quente, com chuvas de verão. O período chuvoso se incia em novembro com termino em abril, precipitação média anual de 431,8mm, temperatura média de 25,2°C. Os frutos de *Syagruscearensis* foram coletados no mês de agosto de 2015, foram colhidos frutos secos e maduros que foram secos ao sol por 5 dias, embalados e levados ao laboratório Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC) onde foi extraído o óleo. De 5 kg de coco catolé, foi extraído 10% do óleo do coco catolé. A extração foi feita emprensa manual Max. H. Neoberger, representada na figura 9. Depois de extraído o óleo foi em seguida centrifugado por 3 vezes durante 30 min, em centrífuga Centribio 80-2B, velocidade de 605 G, para separação dos materiais estranhos.

Figura 9: Prensa manual



Fonte: Autoria própria

4.2 Caracterização físico-química do óleo

4.2.1 Ressonância Magnética Nuclear protônica

As análises de acidez, saponificação, iodo e peróxidos foram realizadas em triplicata de acordo com o método geral preconizado pela Farmacopéia Brasileira V (2010).

A partir do espectro integrado de RMN ^1H , que utiliza os valores das áreas encontradas em deslocamentos específicos no espectro, onde foram utilizadas as equações de Carneiro e colaboradores (2005) (Tabela 2) para obtenção dos valores físico-químicos tais como, acidez, saponificação e iodo, que foram utilizados na comparação com as análises por volumetria. Os espectros de RMN ^1H foram obtidos através de espectrômetro Varian, modelo UNITY plus-300 MHz utilizando clorofórmio deuterado como solvente. Foram acumuladas 16 repetições para cada decaimento induzido e tempo de aquisição de aproximadamente 4 segundos.

Tabela 2- Fórmulas utilizadas para obtenção de parâmetros físico-químicos através da utilização de espectros integrados de RMN ^1H .

Parâmetro	Fórmula
Teor de hidrogênios vinílicos(V)	$V = (\text{área do deslocamento em } 2\text{ppm} / 2) + \text{área do deslocamento em } 2,9\text{ ppm}$
Massa molecular(MM) g/mol	$MM = 119.70 + 703.6 + 5.983 V$
Índice de iodo(II) gI/100g	$II = [126.91 \times 100 V]/MM$
Índice de saponificação(IS) mgKOH/g	$IS = -0.2358 MM + 398.42$
Estado de Oxidação (Ro/a)	$Ro/a = V/\text{área do deslocamento em } 0,9\text{ ppm}$ (referente a soma dos hidrogênios ligados ao grupo metila)
Índice de acidez	$IA = 3.0597 [Roa]^2 - 6.3181 Roa + 3.3381$

4.2.2 Análise Térmica

4.2.2.1 Termogravimetria

As curvas de TG do óleo do coco catolé foram obtidas em termobalança Netzsch, modelo STA-449F3, sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de $50\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$, em porta amostra de alumínio, sob razão de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ numa faixa de temperatura de 40°C a 600°C . O experimento foi executado com amostras cotendo 19mg.

4.2.2.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC do óleo do coco catolé foram obtidas por meio do calorímetro Netzsch, modelo DSC-60, atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50ml.min⁻¹, em porta amostra de alumínio, sob razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ numa faixa de temperatura de 46°C a 600°C. O experimento foi executado com amostras cotendo 19mg.

4.2.3 Cromatografia Gasosa

Para obtenção da composição de ácidos graxos do OBC foi utilizada a técnica de Cromatografia Gasosa associada a Espectrometria de Massa (CG/MS) através de um equipamento marca ThermoScientific de modelo TRACE 1300, tendo o Hélio como gás de arraste com vazão igual a 1mL/min. Foi utilizada a biblioteca Mainlib para identificação dos tipos de ácidos presentes nas amostras.

Para utilização da técnica, os ácidos graxos OBC foram convertidos em ésteres correspondentes através de reação de transesterificação pela rota metílica. Foram utilizados 2g de OBC, 29 mL de álcool etílico marca Dinâmica e 5g de hidróxido de potássio marca Vetec, diluído em 7mL de álcool etílico marca Dinâmica, como catalisador. A mistura de álcool e base foi adicionada ao OBC que ficou sob agitação magnética e temperatura de 80°C durante 240 minutos. Após o processo, uma mistura de ésteres e glicerina foi obtida, separada por meio de um balão de decantação e lavados com hexano de marca Dinâmica. Os ésteres foram acidificados com HCl de marca Dinâmica e lavados novamente com hexano, o produto da reação foi dissolvido em 45 mL de metanol e acrescentado 1,5 mL de ácido sulfúrico de marca Vetec, sob agitação magnética durante 60min. Após processo foi adicionado 20mL de solução saturada de cloreto de sódio e lavados com hexano só então caracterizados por CG/MS (CÂMARA, 1994 apud HORWITG, 1970, P.156).

4.3 Determinação de EHL do óleo

Foi utilizado o método indireto, onde foram preparadas emulsões seriadas do óleo em questão, obtidas utilizando par de emulgentes de EHL conhecido, misturados em proporções variáveis, originando assim, valores definidos e escalonados de EHL (PRISTA et al., 1992; WILKINSON et al., 1990; ZANIN et al., 2002.) Para tanto foram utilizados os seguintes tensoativos: monooleato de sorbitano (Span 80, de EHL 4,3) e monooleato de polioxietilenosorbitano (Tween 80, de EHL 15,0).

As emulsões foram preparadas por aquecimento em banho maria elétrico a 75° das fases aquosa e oleosa separadamente, que foram posteriormente unidas e mantidas sob agitação manual e aquecimento manual por mais 15 minutos. Em seguida as emulsões foram retiradas

do banho maria, mantendo –se agitação manual por mais 15 minutos à temperatura ambiente. As emulsões preparadas foram mantidas em repouso por 24 horas após vedação dos recipientes, e decorrido 24 horas realizada sua avaliação. (PRISTA, et al., 1992; ZANIN et al., 2002).

Para determinar o EHL do óleo neste ensaio, tomou-se como referência a emulsão que apresentou maior estabilidade, admitiu-se, então, que o valor de EHL da emulsão mais estável corresponde ao do óleo em ensaio. O EHL da emulsão foi considerado a soma dos valores correspondentes aos do EHL dos seus constituintes, de acordo com as concentrações utilizadas. (PRISTA et al., 1992; ZANIN et al., 2002). Os valores de EHL estão representados na tabela 3.

Tabela 3- EHL das emulsões preparadas

EMULSÃO	% DE SPAN	% DE TWEEN	ÓLEO (%)	ÁGUA (%)	EHL DA MISTURA
1	90 (4,5g)	10 (0,5g)	10% (10g)	85% (85g)	5,37
2	80 (4,0g)	20 (1,0g)	10% (10g)	85% (85g)	6,44
3	70 (3,5g)	30 (1,5g)	10% (10g)	85% (85g)	7,51
4	60 (3,0g)	40 (2,0g)	10% (10g)	85% (85g)	8,58
5	50 (2,5g)	50 (2,5g)	10% (10g)	85% (85g)	9,65
6	40 (2,0g)	60 (3,0g)	10% (10g)	85% (85g)	10,72
7	30 (1,5g)	70 (3,5g)	10% (10g)	85% (85g)	11,79

4.4 Desenvolvimentodas formulações

As emulsões foram preparadas usando óleo do coco catolé, BHT como antioxidante, como tensoativos foram utilizados oSpan 80 e Tween 80, carbopol 940 e hidroxietilcelulose como agentes de viscosidade e promotores de estabilidade; como conservantes microbiológicos foram utilizados metilparabeno e propilparabenos nas concentrações demonstradas na tabela 4. A proporção dos tensoativos utilizados nas formulações foi determinada em um estudo previamente realizado para determinação do EHL crítico do óleo do coco catolé, utilizando o par de tensoativos citados anteriormente, resultando em um valor de EHL 9,65.

Tabela 4 – Componentes das Formulações

Matérias-primas	Concentrações das matérias-primas (p/p)		
	Form. Nº 1	Form. Nº 2	Form. Nº 3
Óleo do coco Catolé	10,0%	10,0%	10,0%
Span 80	2,5%	2,5%	2,5%
Tween 80	2,5%	2,5%	2,5%
Hidroxietilcelulose	0,2%	-	-
Carbopol	0,4%	0,5%	0,6%
Metilparabeno	0,18%	0,18%	0,18%
Propilparabeno	0,02%	0,02%	0,02%
BHT	0,1%	0,1%	0,1%
Essência	0,05%	0,05%	0,05%
Água q.s.p.	100g	100g	100g

As emulsões foram preparadas aquecendo-se separadamente as fases aquosa e oleosa à temperatura até 70°C. Na fase aquosa foi disperso a hidroxietilcelulose e o carbopol 940, seguido do ajuste do pH (pH 5,5- 6,0) com uma solução de NaOH 20% p/v. Nesse sistema verteu-se a fase oleosa, submetendo-a a agitação de 1000 G (agitador mecânico Fisatom 713D) por 20 minutos. Finalizando o processo de agitação as emulsões foram acondicionadas em recipientes plásticos.

4.5 Estudo de estabilidade acelerada

4.5.1 Avaliação Organoléptica

As formulações foram avaliadas visualmente para verificar se ocorrem modificações macroscópicas, tais como: separação de fase, formação de grumos e/ou precipitados, bem como a cor e o odor em relação ao padrão estabelecido.

4.5.2 Sentido de fase

Consiste em diluir 2ml da emulsão com igual volume de água em um tubo de ensaio, caso a água se incorporasse bem dentro da emulsão, considerava-se essa tipo O/A, caso não houvesse boa incorporação a emulsão era do tipo A/O (SILVA, 1997).

4.5.3 Centrifugação

Neste teste uma amostra de 5g da emulsão foi centrifugada a 50G durante 30 minutos em centrífuga Centribio 80-2B, em seguida foi verificado se houve ou não a ocorrência de separação de fases (BRASIL, 2004).

4.5.4 Determinação do pH

O pH das formulações foi verificado utilizando um pHmetro digital Hanna pH 21, previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0 a uma temperatura de 25°C. A análise estatística da variação de pH de formulações utilizando análises de variância (ANOVA).

4.5.5 Determinação da espalhabilidade

A determinação da espalhabilidade foi realizada por métodos adaptado de Borghetti e Knorst (2006). Em uma placa de vidro disposta sobre papel milimetrado, aplicou-se 0,5g da amostra de cada preparação e sobre a amostra foi colocada uma placa de vidro de peso conhecido. Após um minuto de espalhamento, o diâmetro foi aferido em posições opostas e calculado o diâmetro médio. Para análise estatística dos valores obtidos de espalhabilidade foi utilizado a análise de variância (ANOVA). Subsequentemente, o mesmo procedimento foi repetido até um total de 5 placas. Os resultados foram expressos em espalhabilidade da amostra em função do peso aplicado, de acordo com a equação abaixo:

$$E_i = d^2 \times \pi / 4$$

Onde, E_i = espalhabilidade da amostra para um determinado peso i (mm^2); d = diâmetro médio (mm).

4.5.6 Análise do tamanho das gotículas

O método utilizado para tamanho de gotícula foi o proposto por Coelho 2005. Onde a amostra foi diluída em solução propilenoglicol/água 1:1, na proporção de 1 parte da amostra para vinte partes da solução, em seguida preparou-se a lâmina que foi observada em microscópio óptico Bioval com objetivas de 10, 40 e 100x de magnitude e uma ocular de 10 aumentos, onde foi feita a aferição do diâmetro de 100 gotículas com régua em escala micrométrica acoplada à ocular.

4.5.7 Estudo da estabilidade física por determinação do comportamento reológico

As formulações foram preparadas 24 horas antes da primeira análise e acondicionadas em potes plásticos opacos, sendo armazenadas em temperatura ambiente (25°) e em estufa termostatizada a 45°C por um período de 30 dias.

No tempo 0 e 30 dias foram retiradas amostras das formulações que permaneceram 24 horas em temperatura ambiente, para a determinação da viscosidade e do comportamento reológico (CAMARGO JÚNIOR. 2006).

Posteriormente os valores obtidos de viscosidade e comportamento reológico receberam o tratamento estatístico da análise de variância (ANOVA).

As propriedades reológicas e a viscosidade das formulações foram avaliadas com o auxílio de viscosímetro rotacional da marca RheologyInternational.

Procederam-se as análises utilizando 15 gramas das amostras e spindle ASTM 7. Todas as medidas foram feitas a 25°C e utilizando velocidade de rotação, progressivamente maiores (20-100 rpm), para se obter a curva ascendente. O procedimento foi repetido no sentido inverso com velocidades, progressivamente menores (100-20 rpm), para se obter a curva descendente. Os gráficos obtidos relacionam valores de velocidade de cisalhamento (1/s), valores de tensão de cisalhamento (N/m²) e viscosidade dinâmica (Pa.s). A viscosidade aparente de cada formulação foi verificada com velocidade de rotação do spindle a 50 rpm.

4.6 Ação promotora de absorção de fármacos lipofílicos e hidrofílicos

Avaliação *in vitro* do óleo de catolé como promotor de permeação cutânea do lapachol enquanto fármaco modelo lipofílico, e do metronidazol, como fármaco modelo hidrofílico.

4.6.1 Estudo de liberação e permeação *in vitro*

O estudo de liberação e permeação *in vitro* do lapachol foi realizado utilizando células de difusão tipo Franz com área difusional de 1,77 cm², volume de ± 6 mL, usando membrana artificial hidrofílica de acetato de celulose 0,45 μm para o estudo de liberação e pele de cobra *Boa constrictor* para o estudo de permeação. O compartimento receptor será preenchido com tampão fosfato pH 7,4 num sistema composto de seis células individuais conectadas a um banho termostatizado à 37 ± 0,5 °C sob agitação constante em agitador magnético por um período de 6 horas para perfil cinético de liberação e de 24 horas para perfil cinético de permeação. As membranas foram colocadas na parte superior da célula receptora. Previamente à realização do estudo, as membranas foram hidratadas em tampão fosfato pH 7,4 por um período de 12 horas. No compartimento doador, foram aplicados 300mg da formulação diretamente sobre a membrana. As amostras da solução receptora serão coletadas nos seguintes tempos 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 e 6,0 horas para o perfil cinético de liberação e 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10; 12 e 24 horas para o estudo de permeação. Foram coletados volumes de 1 ml (estudo de liberação) e 1mL (ensaios de permeação), da solução receptora, sendo imediatamente repostos no meio receptor com tampão fosfato pH 7,4 para manutenção das condições sink do sistema. Após cada coleta, as amostras foram quantificadas por espectrofotometria ultravioleta para a avaliação da liberação e para o estudo

depermeaçãoatravés de CLAE-UV. As metodologias foram validadas conforme RE nº 899/03 – ANVISA. A quantidade corrigida do fármaco permeado foi dividida pela área de pele utilizada (1,15 cm²) e esses valores foram plotados em função do tempo (µg/cm² x tempo) para visualização do perfil de liberação e permeação do fármaco.

4.6.2 Cálculo do fluxo (J) e do coeficiente de permeabilidade (Kp)

O fluxo (µg/cm²/h) foi calculado a partir do coeficiente de inclinação da reta que obteve um coeficiente de correlação linear superior a 0,9. O Kp foi calculado através da relação entre o fluxo e a concentração do fármaco no compartimento doador (OLIVEIRA et al., 2010).

4.6.3 Lapachol:

4.6.3.1 Preparação das formulações:

Para a avaliação do óleo de catolé como promotor de permeação do lapachol, foram preparadas três formulações, em duas delas o óleo de catolé estava presente em diferentes concentrações (5 e 10%), conforme demonstrado na tabela 5.

Tabela 5: Constituintes das formulações contendo lapachol

Formulações	1	2	3
Lapachol %	0,5	0,5	0,5
Óleo de Catolé%	-	5	10
Carbopol%	0,5	0,5	0,5
Etanol/Glicerina(70/30)%	40	40	40
Água q.s.p (g)	50g	50g	50g

Para a obtenção das formulações o carbopol foi previamente disperso em água aquecida até 70°C, neutralizou a preparação utilizando trietanolamina e incorporou o lapachol em solução etanol: glicerina, agitando até o resfriamento (LIRA, 2003).

4.6.3.2- Quantificação do lapachol no fluido receptor (**tampão fosfato 7,4 + brij 0,5%**)

Quantificação por espectrofotometria UV

No estudo de liberação, a quantificação do lapachol foi realizada por espectrofotometria em 278 nm. Uma curva de calibração no intervalo de concentrações de

0,1-20 µg/mL foi preparada a partir de uma solução mãe em solução tampão fosfato pH 7,4/100 µg/mL, utilizando espectrofotômetro modelo UV mini-1240 (Shimadzu®) (TABOSA, 2014).

Quantificação do lapachol por CLAE-UV

As análises foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu com controlador SCL-10, auto Injetor SIL-10AD, bomba LC-10AD e UV-VIS Detector SPD-10AV, com fase móvel composta por metanol e ácido acético 5% (80:20 v/v); bombeada sob fluxo de 1,0 mL/min, com coluna Phenomenex Luna 5 µm C18, 100 Å, 250 x 4,6 mm, volume de injeção de 20 µL e detecção por ultravioleta em comprimento de 278 nm, com tempo de análise de 5 minutos (TABOSA, 2014).

4.6.4 Metronidazol

4.6.4.1 Preparação das formulações

Para a avaliação do óleo de catolé como promotor de permeação do metronidazol, foram preparadas três formulações, em duas delas o óleo de catolé estará presente em diferentes concentrações, conforme demonstrado na tabela 6.

Tabela 6: Constituintes das formulações contendo metronidazol

Formulações	1	2	3
Metronidazol %	0,75	0,75	0,75
Óleo de Catolé%	-	5	10
Carbopol%	0,5	0,5	0,5
Água q.s.p (g)	50g	50g	50g

Para a obtenção das formulações o carbopol foi previamente disperso em água aquecida em até 70°C, neutraliza-se à preparação utilizando trietanolamina e incorpora-se o MTZ, agitando até o resfriamento (ARAÚJO, 2016).

4.6.4.2 Quantificação do metronidazol no fluido receptor

Quantificação por espectrofotometria UV

As análises foram realizadas em espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV mini-1240, em 320nm. Os ensaios para determinação dos parâmetros de validação foram realizados de acordo com as normas estabelecidas pela RE 899 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária

(ANVISA). As amostras foram preparadas em tampão fosfato de sódio pH 7,4. Todas as soluções foram previamente filtradas em filtros de 0,45 µm antes da leitura (ARAÚJO, 2016).

Quantificação do metronidazol por CLAE-UV

As análises foram realizadas em cromatógrafo à líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu[®] equipado com detector ultravioleta (UV). A separação foi realizada em uma coluna de fase reversa C18 marca Shimadzu[®] 150 x 4,60 mm e uma pré-coluna C18 de 4 x 4 mm (5 µm), a 35°C. Como fase móvel foi utilizado fosfato de sódio monobásico 20 mM pH 3,0: acetonitrila (88:12), a um fluxo de 1 mL/min e volume de injeção de 20 µl. (ARAÚJO, 2016)

4.7 Estudo de Hidratação

Para a realização deste estudo foi utilizado o *Corneometer* (Courage e Khazaka) observado na figura 10, que mede o conteúdo aquoso do estrato córneo, baseado no princípio da capacitância elétrica, ou seja, na variação da constante dielétrica da água. Os resultados foram fornecidos em unidades arbitrárias (UA) onde se estima que 1 UA corresponda a 0,2 - 0,9mg de água por grama de estrato córneo. Também foi utilizado a Sonda Tewameter (TM), figura 11, que mede a taxa de evaporação de água da superfície da pele, com base na Lei de difusão descoberta por Adolf Fick, em 1885:

$$\frac{dm}{dt} = D \cdot A \cdot \frac{dp}{dx}$$

Onde A= superfície em m²

m= água transportada (g)

t= tempo (h)

D= Constante de difusão

p=pressão de vapor da atmosfera (mm Hg)

x= distância entre a superfície da pele e o ponto de medição (m)

Figura 10: Aparelho *Corneometer*



Fonte: Autoria própria

Figura 11:Sonda Tewameter



Fonte: Autoria própria

Foi avaliado o poder hidratante de formulações contendo óleo do coco catolé, comparando-o com a formulação veículo e com a mesma formulação contendo óleo de amêndoas doce (OAD), esta utilizada como referência por suas reconhecidas qualidades cosméticas, suavizante e tonificante da pele seca, apresentando excelente ação emoliente (SILVA,1997; SOUZA, 2013)

A região escolhida para a realização dos estudos foi a porção inferior média dos antebraços de 25 voluntários, previamente selecionados. Sendo esses voluntários do sexo feminino, pelo fato de que homens por questões hormonais possuem a pele mais hidratada do que a da mulher.

Com o aparelhon *Corneometer*, figura 12, foram efetuados 10 medições em cada região dos antebraços das voluntárias, sendo calculada a média dos valores obtidos. O número de medições realizadas foi determinado conforme tamanho da região estudada, de tal forma a garantir que todo o local fosse avaliado (CAMARGO JÚNIOR, 2006). Com o *Tewameter*,

figura 13, foi necessário apenas uma medição, pois o próprio aparelho faz a média automaticamente.

As voluntárias apresentaram idades entre 20 e 40 anos, ausência de hábito de fumar, não apresentavam alterações hormonais significativas como menopausa, hiper ou hipotireoidismo, entre outros e não apresentavam nenhum tipo de alergia ou dermatose nas regiões dos antebraços. As voluntárias não utilizaram nos antebraços nenhum produto cosmético 24 horas antes do experimento (CORTE, 2006).

Os experimentos foram realizados em sala climatizada, com temperatura ambiente $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de ar de $50 \pm 5\%$. As voluntárias permaneceram 15 minutos nesse local, antes das medidas de hidratação cutânea.

Figura 12: Medição utilizando o *corneometer*



Fonte: Autoria própria

Figura 13: Medição utilizando o tewameter



Fonte: Autoria própria

Os dados foram analisados estatisticamente através do teste de comparação de medidas T de Student para a discussão dos resultados obtidos.

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco/ Brasil, sob o registro CEP/CCS/UFPE N°167/11 e SISNEP FR-417180. Todas as voluntárias leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, declarando que estavam plenamente de acordo em participar desta pesquisa, estando cientes dos procedimentos, dos riscos e dos benefícios.

Avaliação dos efeitos das formulações após uma única aplicação

Neste estudo, para a determinação de efeitos imediatos, as formulações foram aplicadas nos antebraços de 25 voluntários, sendo realizadas medidas antes (valores basais) e após 2 horas da aplicação única, do conteúdo aquoso do estrato córneo.

O antebraço esquerdo foi subdividido em duas regiões (25cm²), onde foram aplicadas a formulação veículo acrescida de 10% de óleo de amêndoas doces, ficando a outra região sem nenhuma aplicação. Em uma área também de 25cm², no braço esquerdo, foi aplicada a formulação veículo, acrescida de 10% de óleo do coco catolé e na outra área a formulação veículo. Essas regiões e as formulações aplicadas nas mesmas foram randomizadas entre as voluntárias a fim de minimizar as diferenças entre as análises. (DA'L BELO et al.,2006)

Avaliação dos efeitos das formulações à longo prazo

Para realização do estudo à longo prazo, 25 voluntárias levaram para suas casas duas das três formulações estudadas, que foram aplicadas uma em cada antebraço, duas vezes ao dia, por um período de 20 dias. As duas formulações objeto estudo (formulação com 10% de óleo do coco catolé e outra contendo 10% de óleo de amêndoas doces) foram fornecidas às voluntárias de forma randomizada, a fim de minimizar as diferenças entre as análises. Após os 20 dias, as voluntárias retornaram ao laboratório para realização de novas medidas do conteúdo aquoso do extrato córneo.

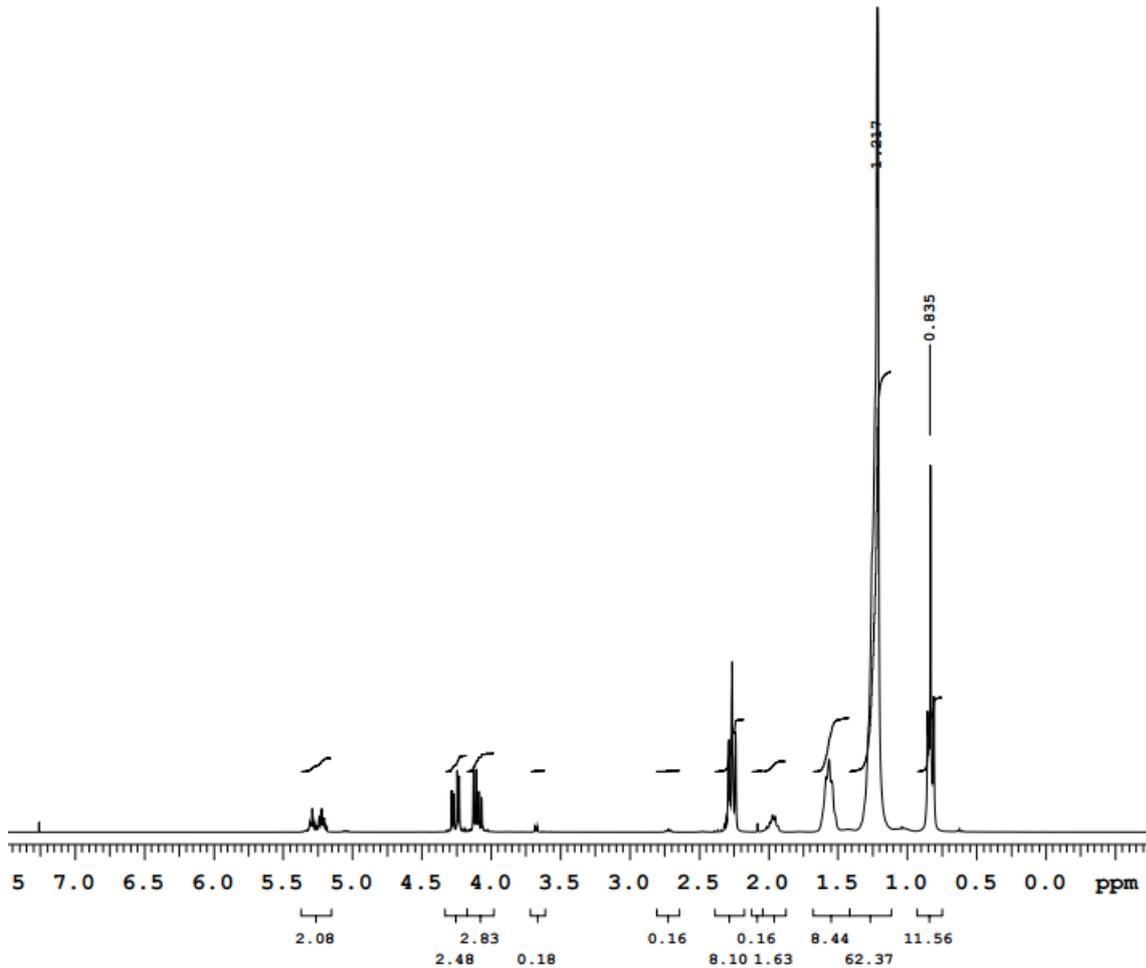
RESULTADOS E DISCUSSÕES

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Caracterização físico – química do óleo

5.1.1 Ressonância Magnética Nuclear protônica

As análises de óleos vegetais para controle de qualidade estão voltadas principalmente para a acidez, índice de peróxidos e técnicas cromatográficas como a cromatografia líquida de alta eficiência e a cromatografia gasosa (HIDALGO, ZAMORA, 2003). Estas técnicas são usadas para medição quantitativa de compostos conhecidos, e, com estes critérios de análise, diferentes regulamentos internacionais foram estabelecidos para definir a qualidade do óleo. Uma desvantagem é que existem muitos ensaios para serem aplicados às análises de rotina. Além disso, alguns desses métodos exigem o isolamento e análise de compostos minoritários por meio de procedimentos que são demorados e numerosos. Contudo, é conveniente aplicar técnicas analíticas, como a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (RMN ^1H), que podem produzir resultados semelhantes ou superiores aos obtidos quando da utilização de procedimentos clássicos (CARNEIRO et al., 2005). Na figura 14 podemos observar o espectro do óleo do coco catolé e na tabela 7 a atribuições que cada pico representa no espectro.

Figura 14: Espectro do RMN do óleo do coco catolé**Tabela 7:** Atribuições dos picos encontrados no espectro de ^1H RMN para o OBC Carneiro *et al*, (2005)

Pico	δ (ppm)	Proton	Grupo
A	0.90	$-\text{CH}_3$	Prótons metil terminal ligado a carbono saturado
B	1.2	$-(\text{CH}_2)_n-$	Prótons metilenos
C	1.6	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOR}$	Prótons metilenos de posição β ao grupo éster
D	2.0	$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$	Prótons alílicos (ácidos graxos insaturados)
E	2.2	$-\text{CH}_2-\text{COOR}$	Prótons metilenos de posição α ao grupo éster
F	2.8	$-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$	Bis-alílicos (ácidos graxos insaturados)
G	4.10-4.40	$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{COR}$	Glicerol (posição α)
H	5.20	$-\text{CH}-\text{O}-\text{COR}$	Glicerol (posição β)
I	5.30	$-\text{CH}=\text{CH}-$	Prótons vinílicos

Os resultados encontrados experimentalmente e os calculados através de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Protóns integrados de RMN ^1H estão representados na tabela 8.

Tabela 8: Caracterização físico-química do óleo do coco catolé.

Parâmetro	RMN H^1 (*) \pm DP	Experimental \pm DP
Massa Molecular	825,36	—
Índice de Iodo	26,94 $\text{gI}_2/100\text{g}$	—
Índice de Saponificação	203,80 mgKOH/g	196,22 mgKOH/g
Índice de acidez	3,28 mgKOH/g	3,7685 mgKOH/g
Matéria insaponificável	—	8,468%
Índice de Peróxidos	—	3,2 \pm 0,8 meq/kg
R_{oa}	11,47	--
Grau de instauração	0,136	--
Conteúdo linolênico	--	--
Conteúdo linoleico	2%	--
Conteúdo oléico	11,6%	--

(*) Valores calculados a partir de dados de espectros integrados de RMN H^1

O índice de acidez e de peróxidos são descritos como parâmetros referenciais para determinar a qualidade de óleos vegetais (FERREIRA et al., 2006).

O índice de acidez expressa em miligramas, a quantidade necessária de hidróxido de potássio para a neutralização dos ácidos graxos livres em 1 g de amostra. Índices elevados de acidez são sugestivos de hidrólise acentuada dos ésteres constituintes da matéria graxa (F. BRAS. V, 2010).

Outros óleos vegetais, como exemplo o óleo de soja, apresenta índice de iodo de 126,48 $\text{gl}_2/100\text{g}$, o óleo de canola 109,59 $\text{gl}_2/100\text{g}$, óleo de milho 116,05 $\text{gl}_2/100\text{g}$, óleo de amêndoa 131,11 $\text{gl}_2/100\text{g}$ (RAMPAZZO, 2015).

O índice de peróxido é o número que exprime, em miliequivalentes de oxigênio ativo, a quantidade de peróxido em 1000 g de substância. É um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação de óleos e gorduras (CECCHI, 2003). O valor de R_{oa} obtido está em consonância com o índice de peróxido.

A Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece como valores máximos permitidos para os índices de acidez e de peróxidos para óleos e gorduras não refinadas 4,0 mg KOH/g e 15 meq/Kg , respectivamente. Portanto, os resultados obtidos experimentalmente e através do RMN H^1 estão em acordo com a resolução.

O índice de saponificação é definido como o número de (mg) de hidróxido de potássio (KOH), necessários para saponificar os ácidos graxos, resultantes da hidrólise de um grama da

amostra pode estabelecer o grau de deterioração e a estabilidade, verificar se as propriedades dos óleos estão de acordo com as especificações e identificar possíveis fraudes e adulterações (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Neste trabalho o ácido graxo linolênico não apresentou valores representativos para caracterizá-lo no óleo do coco catolé.

E o ácido graxo linoleico e oleico apresentou valores representativos baixo de 0,02 e 0,016 respectivamente.

Com relação aos teores dos índices de saponificação determinados observa-se que a média do valor determinado experimentalmente está um pouco abaixo dos limites especificados pela Farmacopeia Brasileira V (2010), que estabelece valores entre 200 - 300mgKOH/g.

5.1.2 Análise Térmica

5.1.2.1 Termogravimetria/DSC

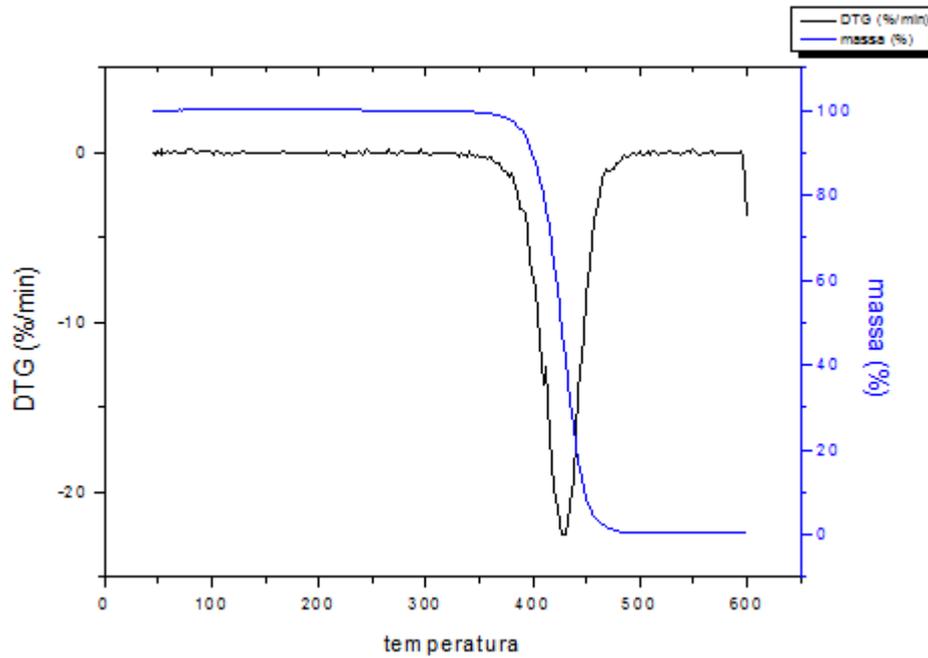
Na figura 14 é apresentado a curva TG/DTG em atmosfera dinâmica de nitrogênio do óleo do coco catolé.

Observa – se na curva TGA (figura 15) que o óleo em estudo apresenta estabilidade térmica até aproximadamente 350°C. A partir desta temperatura observa – se o início da degradação térmica em apenas um estágio.

A curva apresenta perda de massa de 0,33%, em uma única etapa, entre 350 e 500°C, relativa avolatização e/ou decomposição do óleo, apresentando temperatura final de decomposição entre 430 e 500°C.

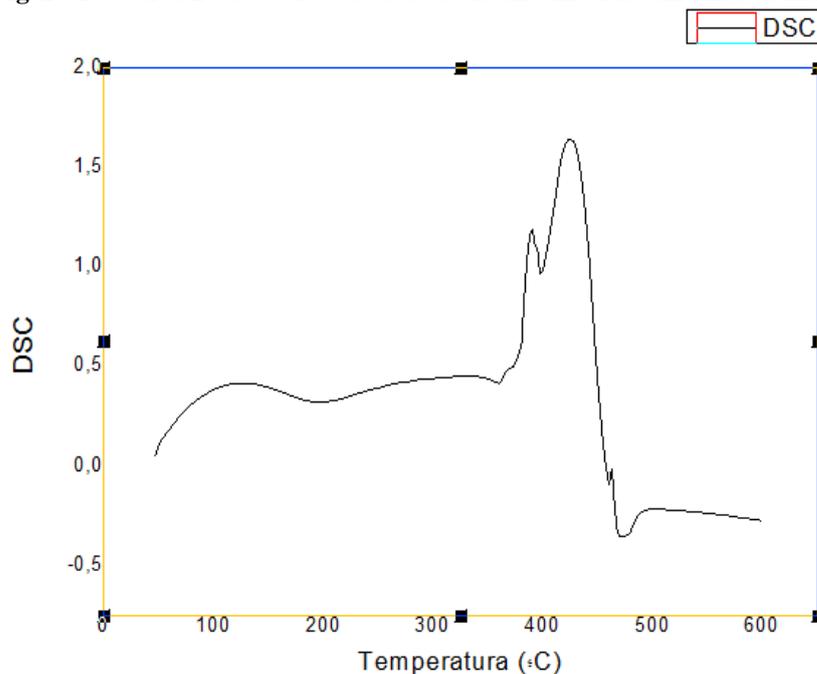
Podemos observar que o óleo em questão apresenta uma boa estabilidade térmica.

Figura 15 – Curva DTG e TGA em atmosfera de nitrogênio do óleo de coco catolé



Na curva de DSC obtidas com razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ Figura 16, revelaram que no intervalo de 350 a 500°C , a amostra do óleo apresenta, dois eventos exotérmicos, ou seja, duas etapas de decomposição, uma etapa iniciando em 350°C , com uma perda referente aos ácidos graxos insaturados e uma segunda etapa em 400°C atribuídos aos ácidos graxos saturados. (BRANDÃO, 2006)

Figura 16: Curva DSC do óleo do coco catolé em atmosfera dinâmica de nitrogênio



5.1.3 Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC/MS)

A cromatografia é utilizada para uma série de processos no qual as substâncias a serem separadas são submetidas à partição no equilíbrio entre duas fases, estacionária e móvel (JENNINGS et al., 1997; RAMPAZZA, 2015). Esta análise fornece a composição de ácidos graxos presentes a partir da identificação destes em comparação com uma série de padrões previamente analisados e é geralmente utilizada complementando outras análises. Na figura 17 temos o cromatograma do óleo do coco catolé.

A tabela 9 traz os resultados obtidos através da análise dos tempos de retenção, indicando a presença dos principais ácidos graxos que fazem parte da molécula de triglicerídeo do óleo.

Figura 17: Cromatograma do óleo do coco catolé

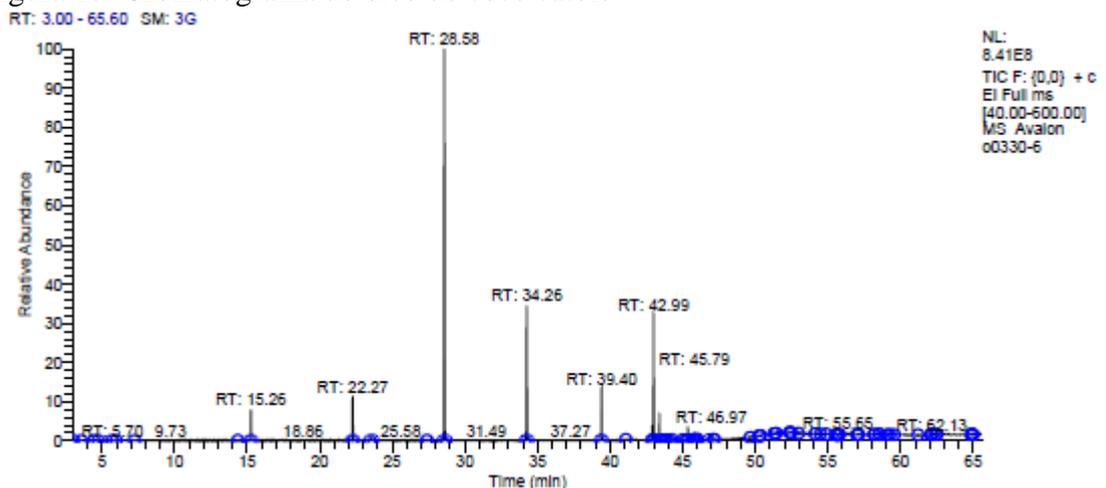


Tabela 9 – Ácidos graxos majoritários do óleo do coco catolé

Tempos de retenção (min)	Atribuição	nº de carbonos: nº de insaturações	Percentual (%)
28,58	Ácido láurico	C12:0	47,66%
42,99	Ácido oléico	C18:1	11,41%
26,46	Ácido palmítico	C18:0	5,89%
22,27	Ácido caprico	C10:0	4,82%
15,26	Ácido caprílico	C8:0	3,23%

A partir da análise da CG/MS, podemos observar que o ácido graxo encontrado em maior percentagem no óleo da borra do do coco catolé é o láurico (47,66%), oleíco (11,41%), palmítico (5,89%), caprico (4,82%) e caprílico (3,23%)

5.2–Determinação do EHL do óleo

As emulsões 1,2,3,4 e 7 apresentaram uma completa separação de fase. As emulsões 5 e 6 mostraram-se totalmente homogêneas, correspondendo ao máximo de estabilidade dos sistemas emulsionados.

Tabela 10 – Resultados do EHL

Emulsão	EHL	ASPECTO	RESULTADO
1	5,37	Separação de fases	RUIM
2	6,44	Separação de fases	RUIM
3	7,51	Separação de fases	RUIM
4	8,58	Separação de fases	RUIM
5	9,65	Homogênea	EXCELENTE
6	10,72	Homogênea	BOM
7	11,79	Separação de fases	RUIM

Podemos observar na tabela 11 que as emulsões homogêneas 5 e 6 foram analisadas no ZetaSizer nano ZS90, observando que na emulsão 5 o tamanho de partícula foi menor, o PDI (Índice de polidispersão) foi menor do que 0,5 sendo uma característica de estabilidade de um sistema emulsionado, na emulsão 6 o PDI também ficou abaixo de 0,5 porém o tamanho de partícula ficou maior, sendo então a emulsão 5 com EHL 9,65 escolhida para realização do estudo de estabilidade.

Tabela 11: Resultado tamanho de partícula das emulsões

	Emulsão 5	Emulsão 6
Size	189,23 NM	249NM
PDI	0,350	0,324
ZETA	-39,56	-28,47

5.3 – Desenvolvimento das formulações

Estudo da estabilidade acelerada

5.3.1 Avaliação organoléptica

As emulsões que foram submetidas ao ensaio de estabilidade acelerada contendo diferentes concentrações de agente espessante, demonstram semelhança no que se refere cor, odor e aparência, em relação as emulsões recentemente elaboradas, independente das condições e períodos de armazenamento.

5.3.2 Sentido de fase

Todas as emulsões apresentaram sentido óleo/água (o/a), mesmo quando submetidas a tratamentos térmicos. Confirmando a predominância dos tensoativos de características hidrofílicas nas emulsões.

5.3.3 Centrifugação

As emulsões mantiveram-se estáveis nos ensaios de centrifugação, não apresentando cremação, nem separação de fase.

5.3.4 Determinação do pH

O pH das emulsões em estudo foi ajustado para valores entre 6,0 e 6,5 e acompanhado durante os estudos de estabilidade. Os valores estão na Tabela 12

Tabela 12: Valores dos pHs das emulsões armazenadas sob diferentes condições e períodos.

	TEMPO 0	APÓS 30 DIAS – T.A.	APÓS 30 DIAS – T- 45°
FORMULAÇÃO 1	6,32 ± 0,01	6,07 ± 0,02	6,06 ± 0,02
FORMULAÇÃO 2	6,04±0,007	6,03±0,004	6,00± 0,10
FORMULAÇÃO 3	6,02± 0,01	6,53 ± 0,01	6,55± 0,01

O pH tem o dever de assegurar a estabilidade dos ingredientes de uma formulação, sua eficácia e segurança (BRASIL, 2004), também ter compatibilidade com os fluidos biológicos de acordo com a via de administração a ser utilizada. É de grande importância acompanhar o pH de uma formulação no decorrer do tempo pois a maior estabilidade dos sistemas ocorre quando estes são mantidos dentro de uma pequena variação de pH.

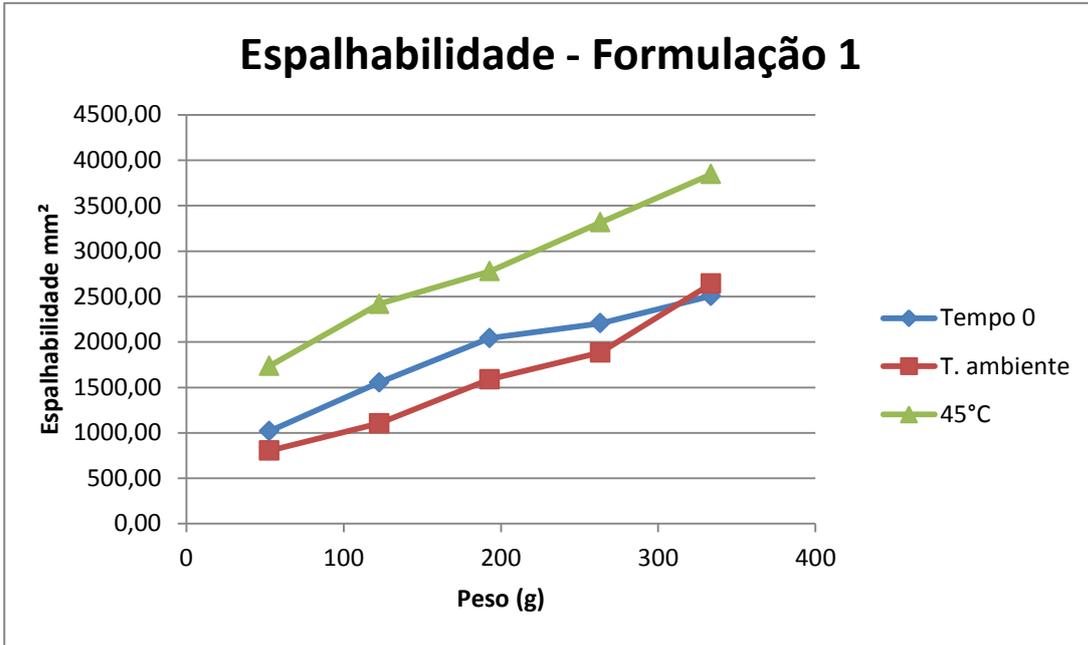
O ajuste do pH dessas formulações foi para valores levemente ácidos, em razão de esta ser a faixa de pH ideal para as finalidades propostas, e ainda, para otimizar a viscosidade do polímero utilizado.

5.3.5 Determinação da espalhabilidade

Os valores de espalhabilidade obtidos para as emulsões em função do peso adicionado estão representados na Figura 18, 19 e 20. A espalhabilidade tem como definição a expansão de uma formulação semi-sólida sobre uma superfície após um determinado período de tempo. É uma das características essenciais das formas farmacêuticas destinadas à aplicação tópica, pois se relaciona com a aplicação dessas formulações no local de ação (KNORST, 1991).

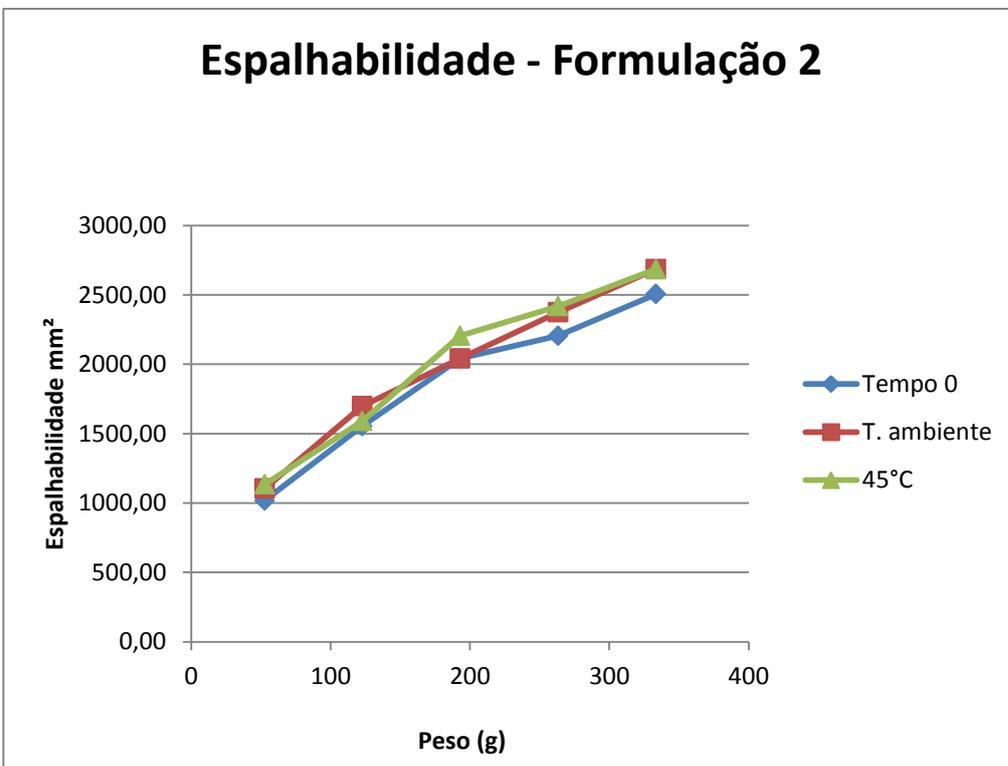
Analisando cada formulação, observa-se que entre o momento de fabricação e após 30 dias em duas diferentes condições, a formulação 1 obteve maior variação estatística nos valores de espalhabilidade ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$) do que a formulação 2 e 3 onde o ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$) mostrou que a espalhabilidade não teve diferença estatística durante os períodos de análises. A formulação 3 apresentou menor espalhabilidade, corroborando com os valores de viscosidade apresentados, uma vez que viscosidade e espalhabilidade são inversamente proporcionais. A explicação para esta formulação apresentar uma menor variação nos valores de espalhabilidade pode ser pela maior viscosidade desta, assim sofrendo menos ação de alguns interferentes externos como temperatura, luminosidade e radiação.

Figura 18: Reograma da espalhabilidade da formulação 1 em diferentes tempos e condições de armazenamento.



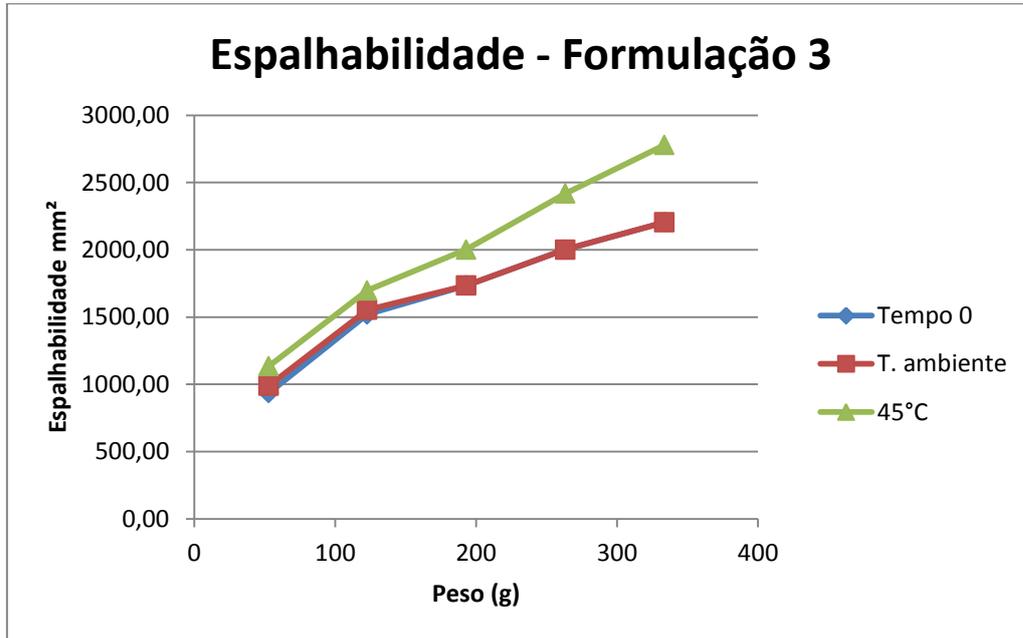
Fonte: Autoria Própria

Figura 19 – Reograma da espalhabilidade da formulação 2 em diferentes tempos e condições de armazenamento.



Fonte: Autoria Própria

Figura 20 – Reograma da espalhabilidade da formulação 3 em diferentes tempos e condições de armazenamento.

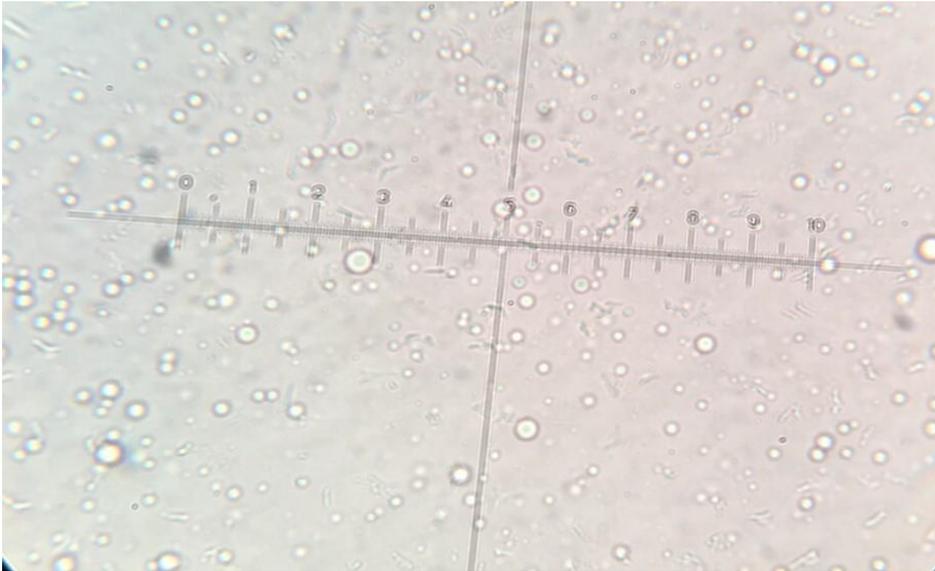


Fonte: Autoria Própria

5.3.6 Análise do tamanho de gotículas

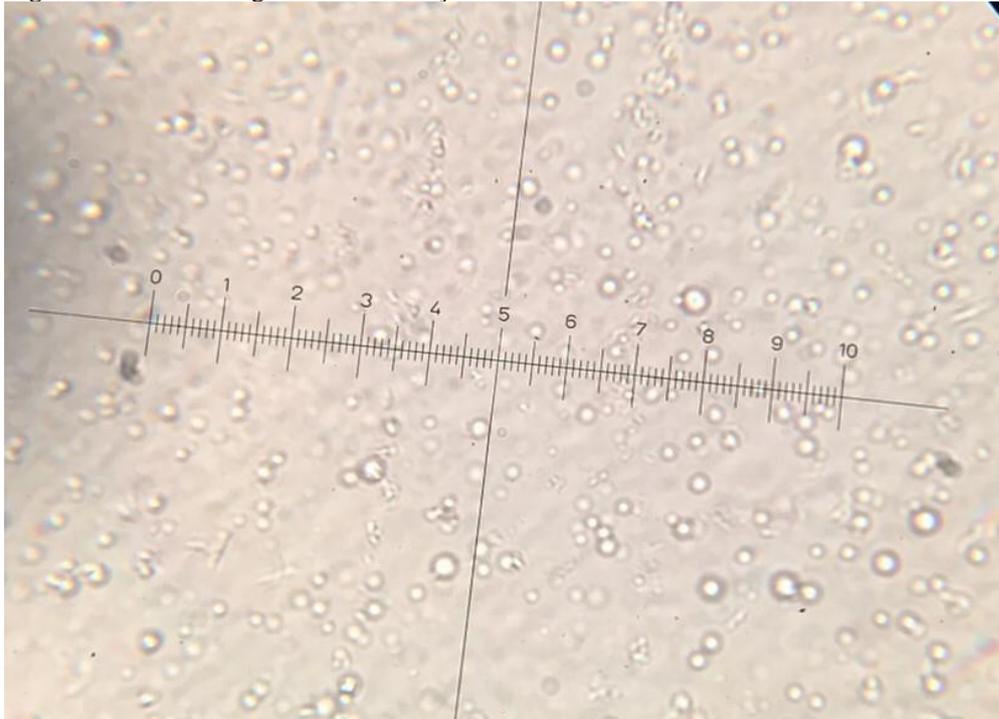
A observação microscópica das gotículas é uma técnica vantajosa para se obter informações sobre a uniformidade da fase interna da emulsão (COELHO, 2005). As figuras 21, 22 e 23 mostram a dispersão das gotículas na fase contínua. O tamanho médio das gotículas foi de $0,2 \mu\text{m}$ ($\pm 0,08$), $0,22 \mu\text{m}$ ($\pm 0,06$) e $0,23 \mu\text{m}$ ($\pm 0,07$) para as formulações 1, 2 e 3 respectivamente. Todas as formulações apresentaram gotículas bem formadas, a formulação 1 apresentou uma grande variação no tamanho das gotículas, aumentando assim a possibilidade das gotículas menores se agregarem às gotículas maiores, podendo desestabilizar o sistema emulsionado mais rapidamente que as demais. Nas formulações 2 e 3 existe uma distribuição homogênea de gotículas garantindo uma melhor estabilidade para o sistema emulsionado.

Figura 21 – Microfotografia da formulação 1.

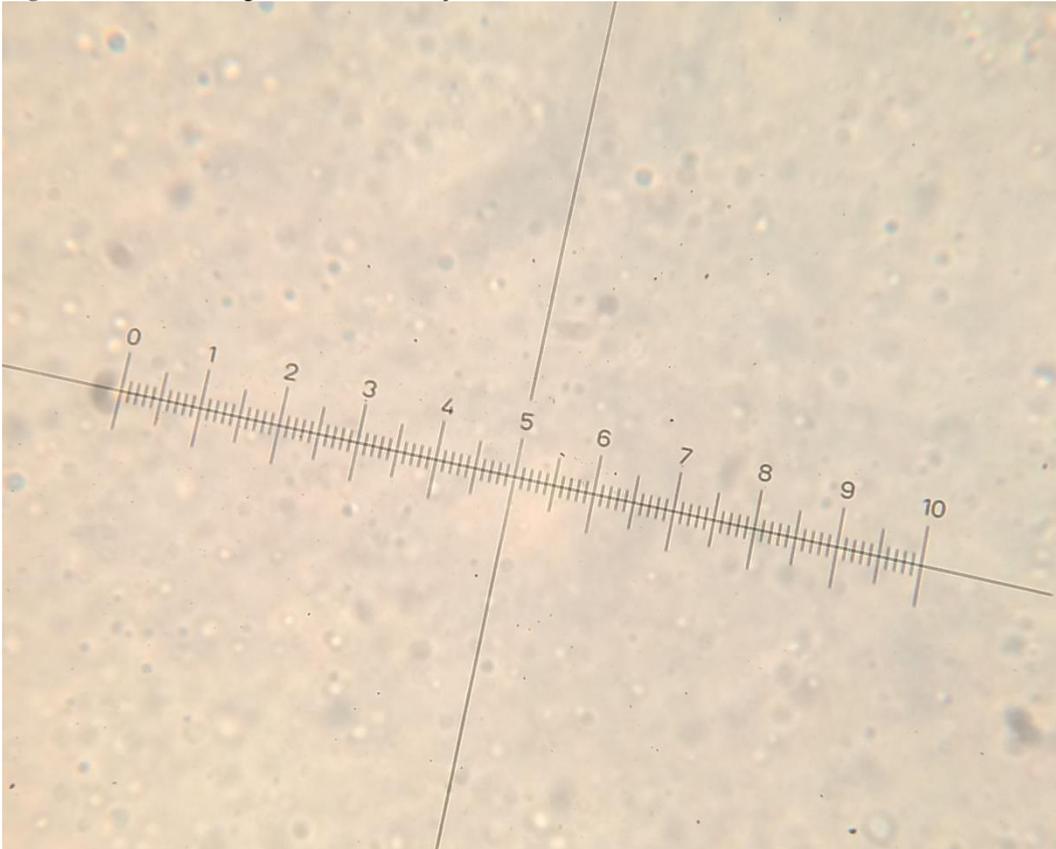


Fonte: Autoria Própria

Figura 22 – Microfotografia da formulação 2.



Fonte: Autoria Própria

Figura 23– Microfotografia da formulação 3.

Fonte: Autoria Própria

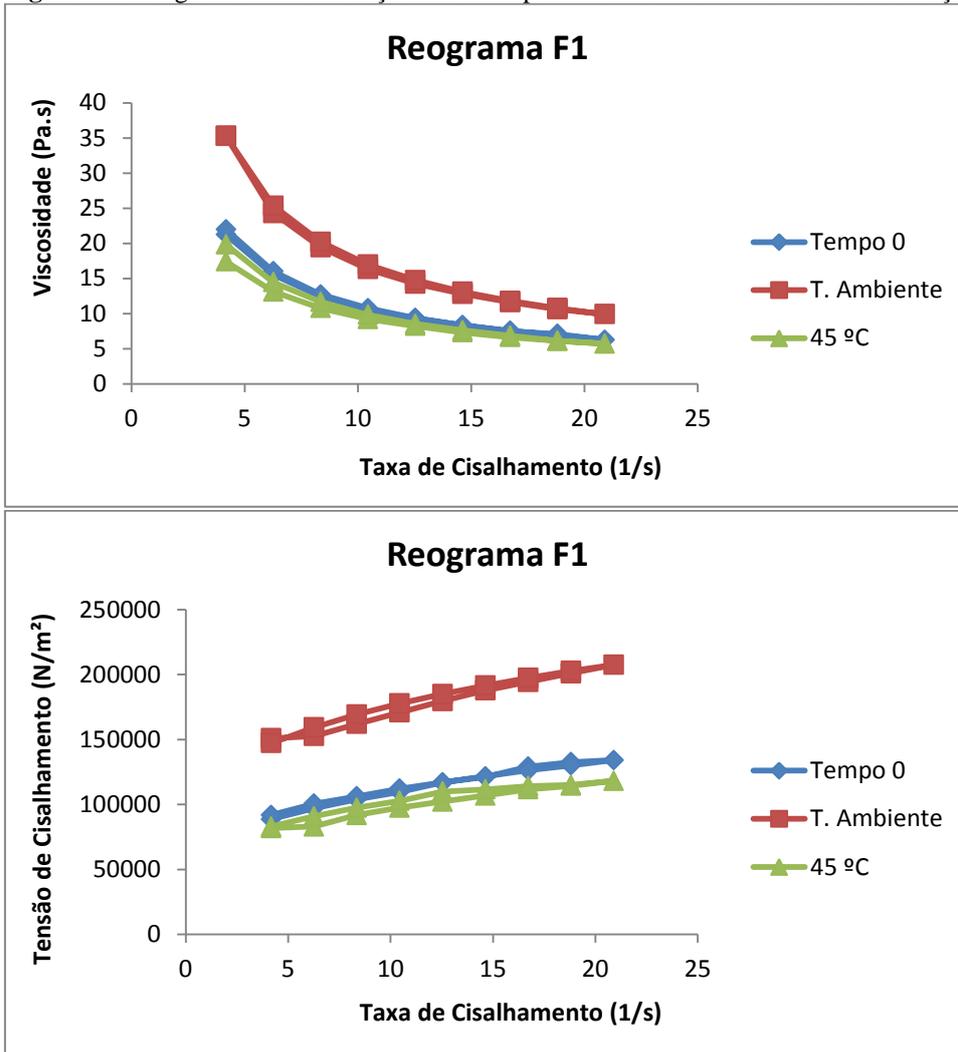
5.3.7 Estudo da estabilidade física por determinação de comportamento reológico

O estudo do comportamento reológico das formulações objeto de estudo, foi avaliado por meio de reogramas (Figuras 24, 25 e 26) e dos valores de viscosidade aparente (Tabela 13), obtidos ao longo do período de 30 dias.

Tabela 13: Valores médios das viscosidades aparentes (Pa/s) das emulsões nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.

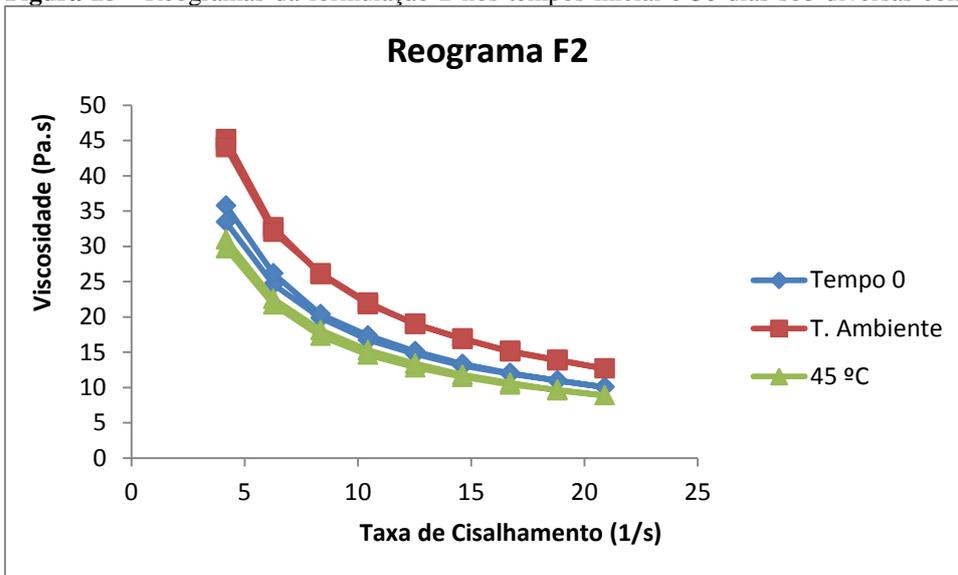
	T0	30 dias à 25°C	30 dias à 45°C
F1	15,6± 0,01	31,6± 6,91	13,5± 0,63
F2	23,9± 0,85	26,4± 5,69	21,8±0,66
F3	27,1±0,08	28,3±3,40	22,4± 1,66

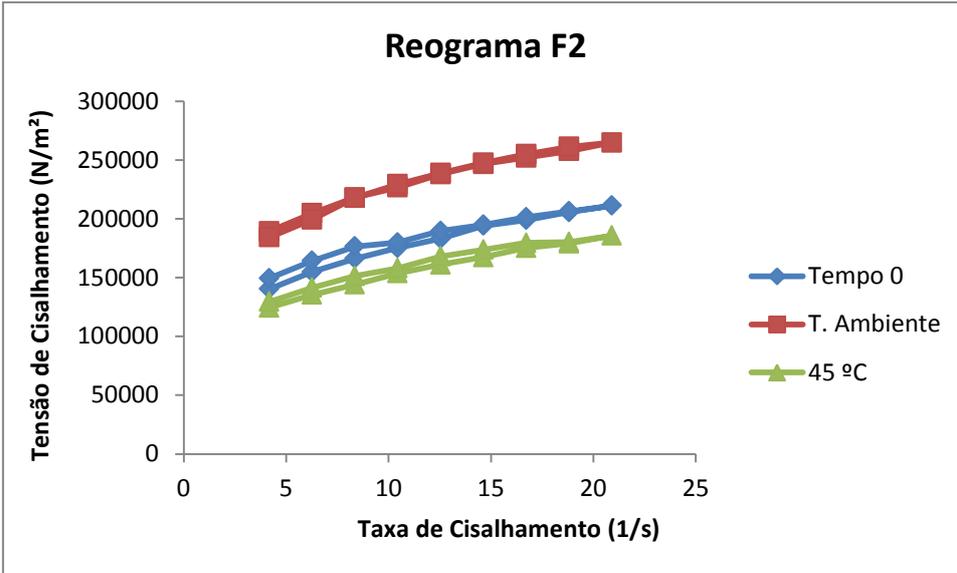
Figura 24: Reogramas da formulação 1 nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.



Fonte: Autoria Própria

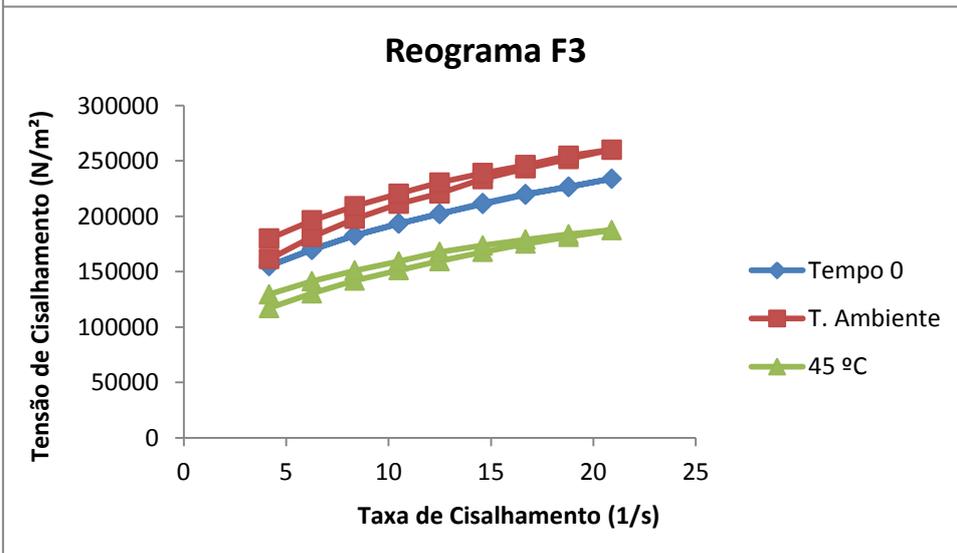
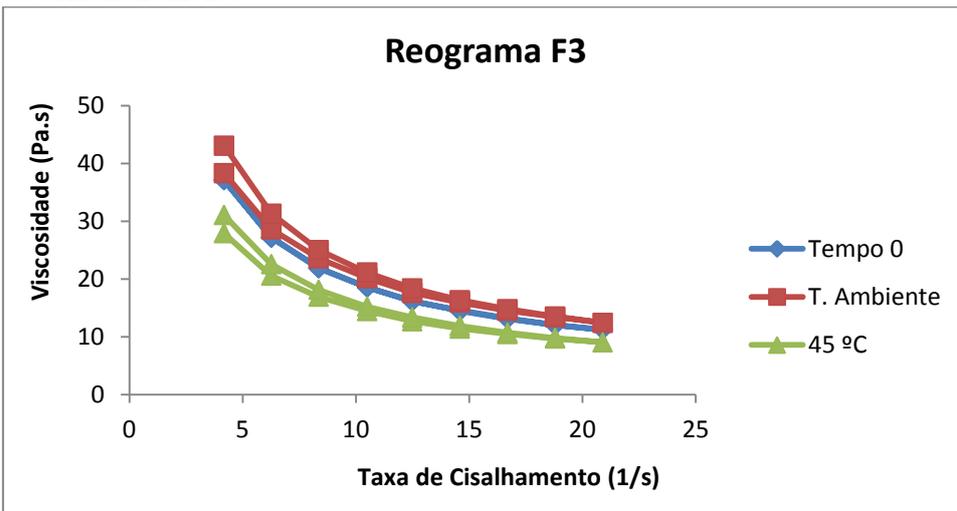
Figura 25 - Reogramas da formulação 2 nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamen





Fonte: Autoria própria

Figura 26 - Reogramas da formulação 2 nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.



Fonte: Autoria Própria

Os valores de viscosidade aparente obtidos mostram que a viscosidade de todas as formulações decresceu durante o período de estudo a temperatura ambiente e quando submetidos à temperatura de 45°C. As três formulações foram consideradas estatisticamente diferentes. ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$). A formulação 3 apresentou maior viscosidade aparente e a menor variação deste valor nos períodos e condições estudadas. Fato esse já esperado, pois foi a formulação que possuiu o maior percentual do agente de viscosidade (Carbopol®), corroborando com o resultado da espalhabilidade obtido (quanto maior a viscosidade, menor a espalhabilidade).

As formulações não seguem a lei de Newton que descreve o fluxo ideal utilizando uma equação constitutiva na qual o estresse e a taxa de deformação estão relacionadas através de uma proporcionalidade constante, chamada viscosidade, sendo então consideradas fluidos não-Newtonianos (MARTIN, 1993). Também pode-se observar que a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento caracterizando um fluido pseudoplástico (MARTIN, 1993; TADROS, 2004). Isso pode ser visto através dos gráficos das viscosidades que mostram uma relação não linear entre a viscosidade relativa e a taxa de cisalhamento.

O comportamento pseudoplástico que foi apresentado por todas as formulações é uma característica desejável para emulsões, pois os valores de viscosidade são reduzidos com o aumento da tensão de cisalhamento, facilitando a aplicação sobre a pele. (MORAIS et al., 2005).

As formulações apresentaram diferenças estatisticamente significativa entre seus valores reológicos ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$), porém a formulação 3 obteve menor variação estatística nos tempos analisados (T0, após 30 T.A e após 30 dias a 45°C) seguida da formulação 2 e por último da formulação 1. Assim, a formulação 3 foi considerada a formulação que melhor manteve suas características reológicas durante todo o período de análise sob as diferentes condições mais próximas das características iniciais.

5.4 Ação promotora de absorção de fármacos lipofílicos e hidrofílicos

Observando o perfil de liberação *in vitro* do lapachol e do metronidazol em membrana de acetato de celulose (Figuras 27 e 28) respectivamente, pode-se verificar que estes não apresentaram diferenças significativas para ambos os ativos, no intervalo de confiança de 95% na quantidade total liberada a partir das formulações contendo ou não óleo de catolé. Considerando que a viscosidade da formulação é um dos fatores que pode influenciar na penetração cutânea de fármacos (LIRA, 2003; WANG et al, 2001), e que não existem diferenças significativas nas viscosidades destas formulações, o estudo *in vitro* em membrana

artificial unicamente, não é capaz de diferenciar a liberação de ambos os fármacos, em virtude de modificações suscintas nas formulações. A membrana neste caso age apenas como uma simples barreira utilizada para separar o meio doador do receptor. Por isto trata-se de uma ferramenta utilizada apenas no controle de qualidade de formas farmacêuticas de aplicação local.

Na tabela 14 relacionada ao lapachol observou-se após a realização da regressão linear do gráfico da concentração liberada em função do tempo, os valores dos coeficientes de correlação apresentam-se próximo de 1, demonstrando que as formulações seguem o modelo de ordem zero, onde a velocidade de liberação é constante, independente da concentração da droga. As membranas no referido estudo não representaram uma barreira, a difusão do fármaco em direção a solução receptora refletiu a capacidade de saída desta da matriz (TABOSA, 2014).

Figura 27: Perfil da liberação *in vitro* das formulações estudadas (lapachol) (N=6)

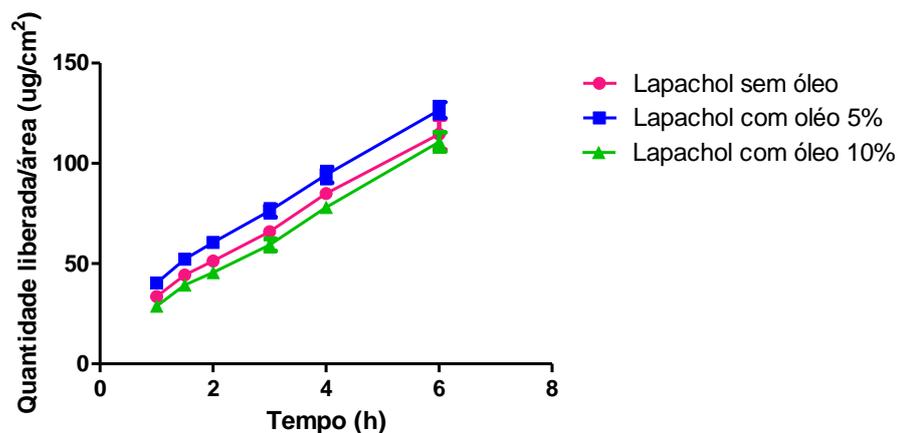
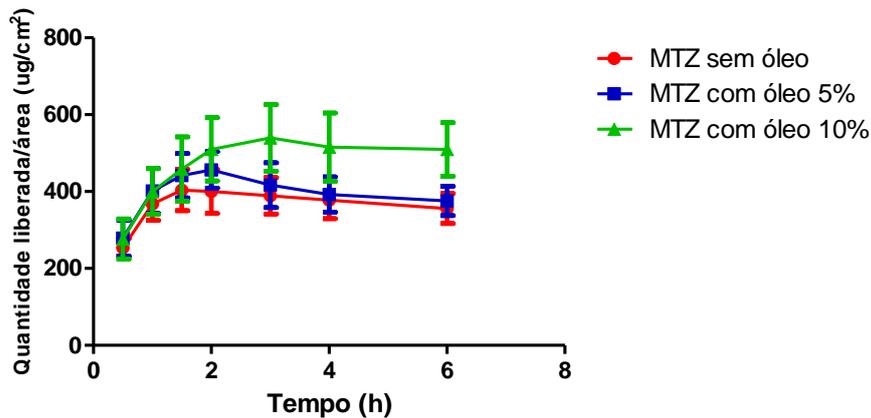


Tabela 14: Quantidade liberada após 6h ($Q_{12} \pm D.P.$), Taxa de liberação $\pm D.P.$ e modelo cinético do lapachol

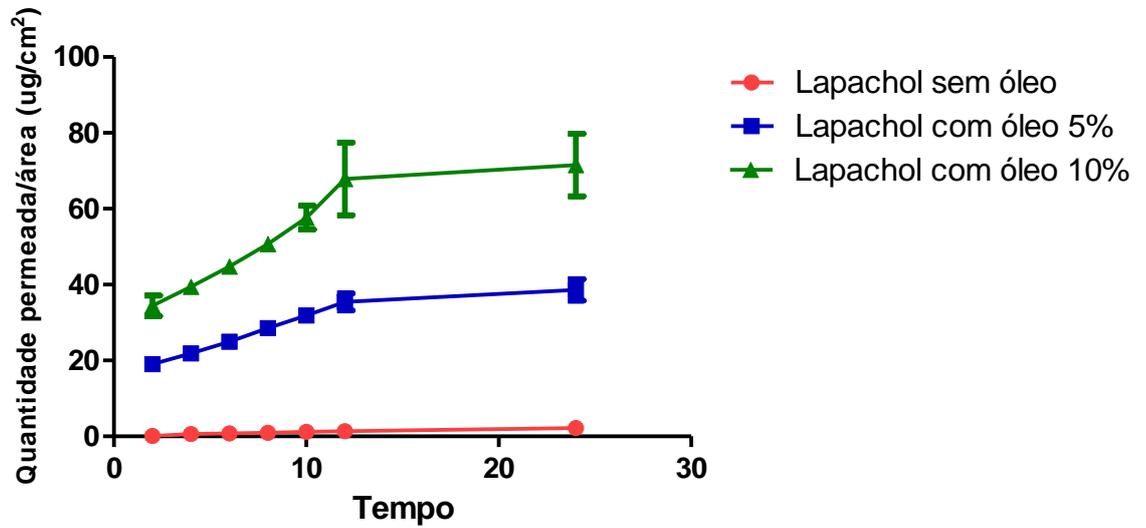
Formulação	Quantidade liberada após 6h (μg)	Taxa de liberação ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	Modelo cinético	Coefficiente de determinação (r^2)
F1 – Sem óleo	114,53	9,08	Ordem zero	0,9979
F2 – 5% óleo de coco catolé	126,58	9,59	Ordem zero	0,9982
F3 – 10% óleo de coco catolé	110,72	9,13	Ordem zero	0,9979

Figura 28: Perfil da liberação *in vitro* das formulações estudadas (metronidazol) (N=6)

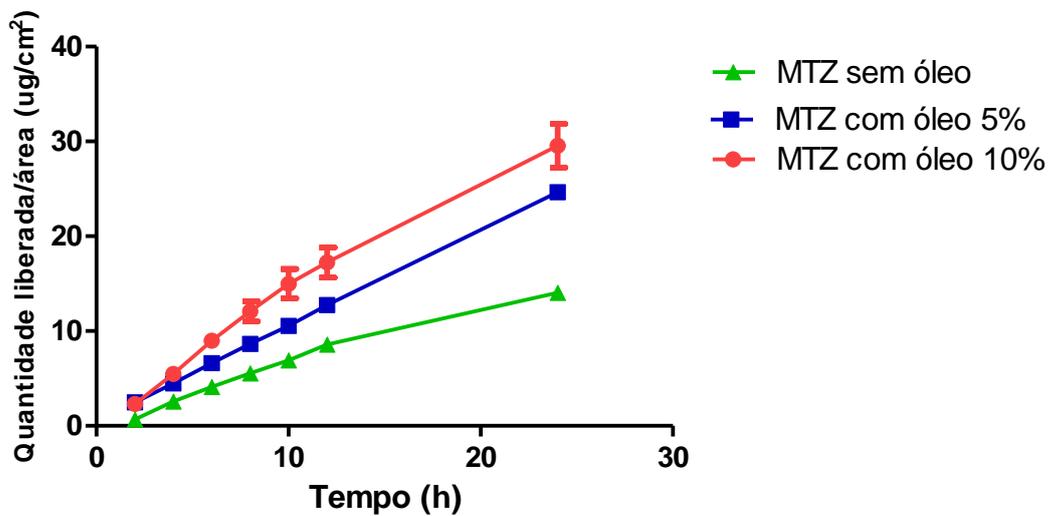


A pele da cobra *Boa constrictor* foi a membrana utilizada no estudo de permeação *in vitro* do óleo do coco catolé (Figuras 29 e 30), podendo-se observar que existem diferenças significativas no intervalo de confiança de 95% na quantidade liberada tanto do ativo lapachol, quanto do metronidazol quando da utilização do óleo de catolé nas formulações. Foi utilizado como tratamento estatístico two-way ANOVA. Os experimentos de permeação foram realizados por um período de 24 horas. A tabela 15 apresenta os resultados obtidos em relação a quantidade permeada (Q24), ao fluxo (J) e ao coeficiente de partição (Kp), após o final do experimento.

O fluxo de liberação do lapachol, em cinéticas de permeação, depende da interação fármaco/veículo. É sabido que o veículo pode influenciar na liberação da substância ativa, mas esse veículo pode exercer mais efeitos quando aplicados na pele, interagindo assim com estrato córneo de diversas maneiras, seja desestabilizando a função barreira; provocando mudança na solubilidade e na difusão da substância ativa através estrato córneo. Podemos observar que o óleo do coco catolé agiu como um bom promotor de permeação nessas emulsões, ocasionando assim uma maior permeação do fármaco a partir daquelas que continham o referido óleo (TABOSA, 2014).

Figura29: Perfil cinético de permeação do lapachol (N=6)**Tabela 15-**Quantidade permeada após 12h ($Q_{24} \pm D.P.$), Fluxo $\pm D.P$ e K_p do lapachol

Formulação	Quantidade permeada após 12h (μ)	Fluxo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	Coefficiente de permeabilidade ($\text{cm} \times 10^{-4}/\text{h}$)
F1 – Sem óleo	$8,59 \pm 0,32$	$0,54 \pm 0,01$	$1,08 \pm 0,03$
F2 – 5% óleo do óleo do coco catolé	$14,79 \pm 14,07$	$2,20 \pm 1,49$	$4,40 \pm 3,00$
F3 – 10% óleo do coco catolé	$17,23 \pm 13,86$	$2,48 \pm 1,70$	$4,96 \pm 3,40$

Figura 30: Perfil cinético de permeação do metronidazol (N=6)

5.5 Estudo de hidratação

Os resultados obtidos na avaliação dos efeitos hidratantes das formulações após uma única aplicação e após 20 dias foram submetidos à análise estatística e verificadas alterações estatisticamente significativas. Os resultados estão demonstrados nas tabelas 16, 17 e 18 e nas figuras 31, 32 e 33.

Tabela 16: Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 2 horas de uma única aplicação das formulações estudadas

TEMPO	REGIÕES AVALIADAS	MÉDIA
Antes	1- veículo	31.36± 2.91
	2- veículo + 10% óleo de catolé	31.40± 2.93
	3- veículo + 10% óleo de amêndoas	31.26± 4.84
	4- controle negativo	32.70± 4.93
Após 2 horas	1- veículo	32.72± 3.19
	2- veículo + 10% óleo de catolé	38.95± 3.25
	3- veículo + 10% óleo de amêndoas	37.66±7.01
	4- controle negativo	35.25±7.36

Figura 31: Variação o conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 2 horas de uma única aplicação das formulações estudadas.

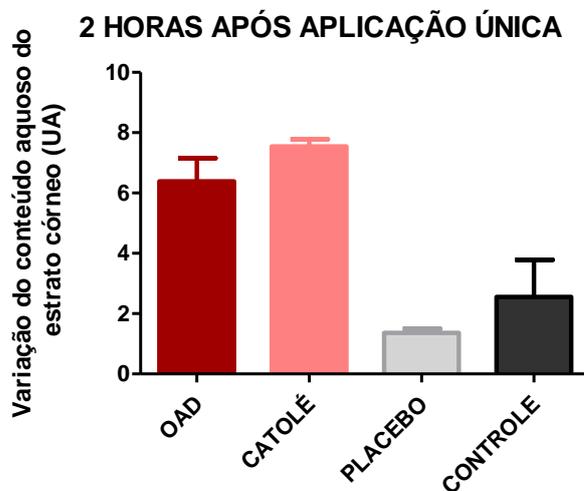
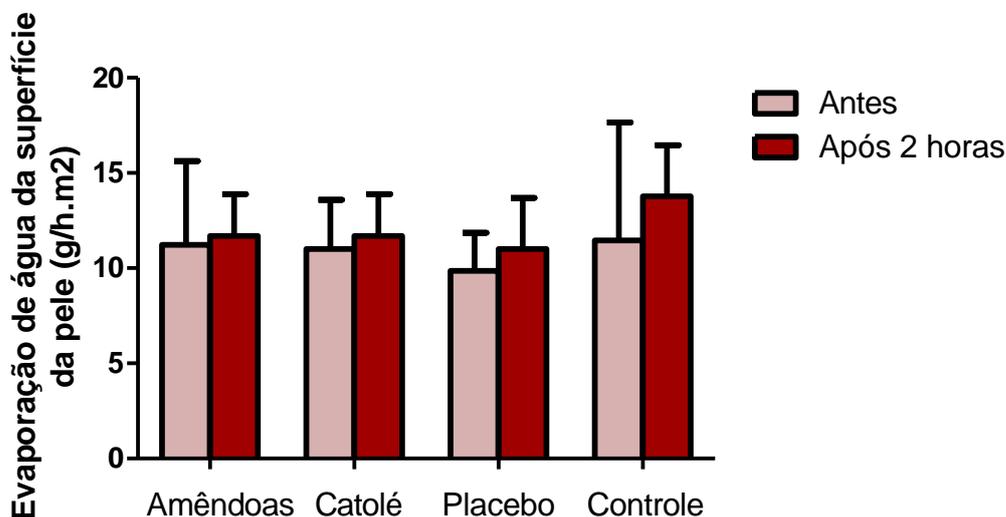


Tabela 17: Taxa de evaporação de água da superfície da pele dos antebraços após uma única aplicação das formulações estudadas.

TEMPO	REGIÕES AVALIADAS	MÉDIA Fluxo de água (g/h.m ²)
ANTES	1- VEÍCULO + 10% ÓLEO DE AMÊNDOAS	11,224 ± 4,40
	2-VEÍCULO + 10% ÓLEO DE COCO CATOLÉ	11,006 ± 2,58
	3 - VEÍCULO	9,860 ± 1,99
	4- CONTROLE	11,460 ± 6,20
APÓS 2 HORAS	2- VEÍCULO + 10% ÓLEO DE AMÊNDOAS	11,697 ± 2,20
	2-VEÍCULO + 10% ÓLEO DE COCO CATOLÉ	11,697 ± 2,20
	3 - VEÍCULO	11,013 ± 2,67
	4- CONTROLE	13,777 ± 2,68

Figura 32: Gráfico da taxa de evaporação de água da superfície da pele avaliadas dos antebraços antes e após 2 horas da aplicação das formulações



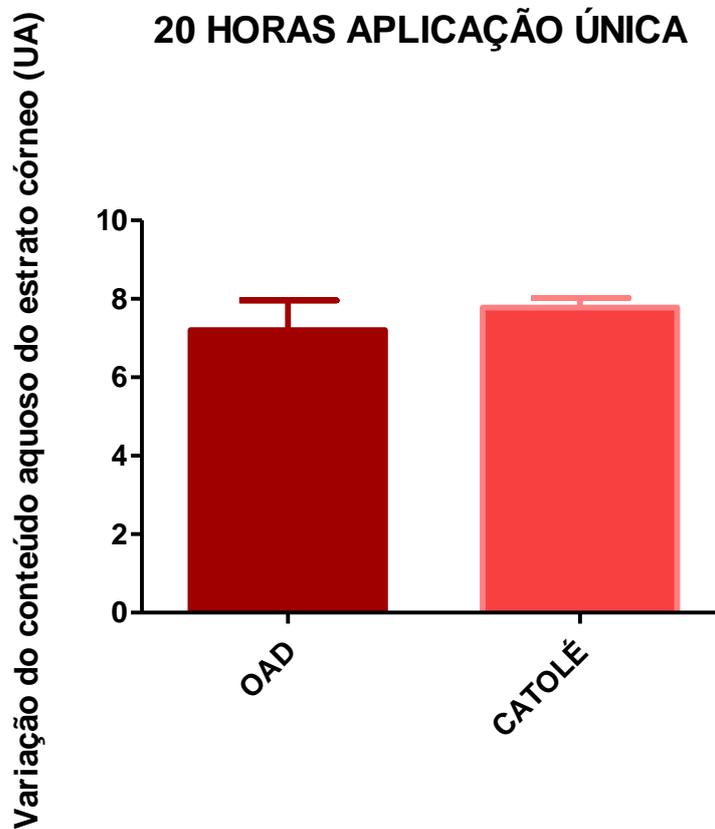
De acordo com os resultados é possível observar que, após 2 horas de aplicação, as formulações com óleo de amêndoas e óleo do coco catolé aumentaram o conteúdo aquoso do estrato córneo significativamente em relação aos valores basais e aqueles observados na formulação placebo, na tabela 16. No entanto, quando comparado com o óleo de amêndoas doce, demonstrou um menor potencial hidratante, fato que deve está relacionado com o pequeno percentual de ácido oleico e linoleico presente neste óleo (11,6 e 2%). O óleo de borra do café, por exemplo, apresenta um conteúdo de ácido oleico e linoleico de 24 e 39% respectivamente (Dantas, 2016). O OAD, utilizado como padrão para este estudo apresenta cerca de 64 e 8% dos ácidos oleico e linoleico respectivamente, sendo estes responsável por sua ação hidratante.

Em relação a perda de água da superfície da pele, podemos afirmar que na formulação com óleo de amêndoas e o óleo de coco catolé a perda de água na superfície da pele diminuiu, comparada com o placebo e controle.

Tabela 18: Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 20 dias de aplicação diária das formulações estudadas do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços após 20 dias de aplicação das formulações estudadas

TEMPO	REGIÕES AVALIADAS	MÉDIA
Antes	1- veículo + 10% óleo de catolé	31.40± 2.93
	2- veículo + 10% óleo de amêndoas	31.26± 4.84
	1- veículo + 10% óleo de catolé	39.18± 3.21
Após 20 dias	2- veículo + 10% óleo de amêndoas	38.47± 6.76

Figura 33: Variação do conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 20 dias de aplicação diária das formulações estudadas.



Os resultados do efeito hidratante a longo prazo, mostraram que as formulações apresentaram um poder hidratação iguais entre si, corroborando com as análises realizadas após 2h, confirmando que o OAD tem um potencial de hidratação maior que o óleo de catolé, devido a presença de maiores concentrações de ácido oleico e linoleico. Vale salientar que, mesmo apresentando os mesmos resultados (dose única e dose continuada), é muito importante avaliar um produto dermocosmetico nas reais condições de uso, porque permite compreender melhor seus efeitos na pele a longo prazo (CAMARGO JÚNIOR, 2006).

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

Conforme os resultados obtidos no estudo de desenvolvimento e estabilidade a formulação de nº 3, a formulação que possuem maior quantidade de carbopol, foi considerada a que obteve maior estabilidade, apresentando também características desejáveis para os cosméticos como a pseudoplasticidade e a tixotropia.

Como promotor de permeação, podemos concluir que o óleo do coco catolé aumentou a permeação dos marcadores lipofílico e hidrofílico, podendo vir a ser utilizado para este fim.

Na avaliação dos efeitos hidratantes, as formulações que continham óleo de coco catolé não proporcionaram um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo, tanto após aplicação única quanto em uso contínuo, quando comparado com OAD. No entanto, foram significativos quando comparado com os valores basais. Quanto à taxa da perda de água na superfície da pele podemos concluir que houve uma diminuição nessa taxa após aplicação única, corroborando com o resultado do corneômetro, proporcionando assim hidratação da pele. O efeito hidratante foi, portanto, menor que o efeito do OAD.

Os resultados também permitem sinalizar a utilização demais um óleo vegetal com aplicabilidade cosmética para a cadeia produtiva de produtos naturais e desenvolvimento sustentável. Dessa forma, o óleo do coco catolé pode ser considerado um adjuvante lipofílico com função hidratante, podendo vir a ser utilizado em preparações cosméticas.

PERSPECTIVAS

7 PERSPECTIVAS

- Solicitar patente relacionada ao uso do óleo do coco catolé como promotor de permeação de fármacos hidrofílicos e lipofílicos e sua ação hidratante;
- Realizar novos testes de permeação com o óleo do coco catolé utilizando outros fármacos;
- Publicar um artigo científico.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ADDOR, F.A.S.; AOKI, V. **Barreira cutânea na dermatite atópica.** AnBrasDermatol.85(2):184-94, 2010.
- ANSEL, H.C.; POPOVICK, N.G.; ALLEN JR, L.V. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos.** 8 ed. Artmed. Porto Alegre. 2009.
- ARAUJO, T.P. de. **Bioequivalência tópica: Correlação *in vitro/in vivo* de produtos contendo metronidazol.** 2016, 90 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.
- AULTON, M.E. **Deliniamento de formas farmacêuticas.** 2 ed. Artmed. Porto Alegre. 2005
- BABY, A.R. et al. **Estabilidade e estudo de penetração cutânea *in vitro* da rutina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol.44, n.2, abr./jun. 2008.
- BATISTELA, M.A.; CHORILLI, M.; LEONARDI, G.R. **Abordagem do envelhecimento cutâneo em diferentes etnias.** Ver. Bra. Farm., 88(2):59-62, 2007
- BRADÃO, K. S. R.; NASCIMENTO, U.M.; SILVA, F.C.; SOUZA, A.G.; CONCEIÇÃO, M.M. **Avaliação da estabilidade térmica do óleo de pequi (*Caryocar Coriaceum Seed Oil*).** V Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria – V CBRATEC, 2006.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia de estabilidade de produtos cosméticos.** Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. Brasília, 2007.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia de estabilidade de produtos cosméticos.** Brasília, 2004.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA. **Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005** D.O.U. – Diário da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005.
- CAMARGO JUNIOR, F.B. **Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo pantenol e avaliação dos seus efeitos hidratantes na pele humano por bioengenharia cutânea.** 2006. 152 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2006.
- CARNEIRO, P.I.B.; REDA, S.Y.; CARNEIRO, E.B.B. ¹H NMR characterization of seed oils from Rangpur Lime (*Citrus limonia*) and “scilian” lemon (*Citrus Limon*). Annals of Magnetic Resonance. V.4, p.64-68, 2005.
- CECHI, H.M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em análise de alimentos.** 2 ed. Unicamp, Campinas, 2003.
- CESTARI, S. C. P. **Importância da hidratação da pele da criança nos processos inflamatórios.** Pediatria Moderna. V 41, N1, 28-30, Jan/fev, 2005.

CHORILLI, M.; BRIZANTE, A.C.; RODRIGUES, C.A.; SALGADO, H.R.N. **Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de liberação de fármacos.** Ver Bra. Farm.,88(1):7-13, 2007.

CHORILLI, M.; CAMPOS,G.R.; BOLFARINI, P.M.L. **Desenvolvimento e estudo da estabilidade físico-química de emulsões múltiplas A/O/A e O/A/O acrescidas de filtros químicos e manteiga de Karité.** Lat. Am. J. Pharm. 28 (6): 936—40, 2009.

COELHO, L.C.S. **Protetor solar: Desenvolvimento farmacotécnico e avaliação da eficácia e segurança.** 2005, 110p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Pernambuco, Recife,2005.

CORNELIO, R.; MAYORGA, P. **Estudo da penetração cutânea do Flurbiprofeno.**Latin American Journalofpharmacy. 26(6): 883-8, 2007.

CORTE, T.W.F. **Desenvolvimento e avaliação da eficácia de emulsões cosméticas para xerose senil.** 2006. P.138. Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

COSTA A. **Hidratação cutânea.**RBM RevBras Med. (Ed. Esp. Dermatologia). 66:15-21. 2009.

DAL'BELO,S.E.;GASPAR,L.R.;MAIACAMPOS,P.M.B.G.
MoisturizingeffectofcosmeticformulationscontainingAloe Veraextract in differentconcentrationsassessedby skinbioengineeringtechniques.SkinResearchand Technology, v.12, p. 241-246, 2006.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. **Parte 1. 5. Ed. São Paulo:** Atheneu, 2010.

FERREIRA. E.S.; SILVEIRA. C.S.; LUCIEN.V.G.; AMARAL, A.S. **Caracterização Físico-Química da Amêndoa, Torta e Composição dos ácidos graxos marjoritários do óleo bruto da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K).** Alimentos e Nutrição. V.17, n.2, p. 203-208, 2006.

FRANGE, R.C.C.; GARCIA, M.T.J. **Desenvolvimento de emulsões óleo de oliva/ água: avaliação da estabilidade física.**RevCiêncFarm Básica Apl., 30 (3): 263-271, 2009.

FREIRE, V de. A.; FERREIRA, K.R.M.; SANTIAGO, R.R. **AnáliseFísico- química da polpa do coco catolé (*Syagrus Cearenses*): Uma nova proposta sobre sustentabilidade alimentar.** I workshop Internacional sobre água no semiárido Brasileiro,2013.

HADGRAFT, J. **Skin, the final frontier.** Int. J. Pharm., v.224, p.1-18, 2001.

HARDING, C.R. et al.**The cornified cell envelope: an importante marker of stratum corneum maturation in healthy and dry skin.** International Journaul of cosmetic Science, 25, 157-167, 2003

HIDALGO. F.J.; ZALMORA, R. **Edibleoilanalysesby high-resolution nuclear magneticresonancespectroscopy: recentadvancesand future perspectives.** Trends in Food Science & Technology.V.14, n.12, p.449-506, 2003.

ITOH, T.; XIA, J.; MAGAVI, R.; NISHIHATA, T. & RYTTING, J.H. **Use of snake as a membranafor “in vitro” percutaneous penetration studies: Comparison with human skin.** *Pharmaceutical Research*, 7:1042-1047 (1990).

JESUS, G.S de.; FERREIRA A da. S.; MENDONÇA A.C. **Fonoforese e permeação cutânea.** *Fisioterapia em Movimento*, Curitiba, v.19, n.4, p. 83-88, out./dez., 2006

LIMA, C.G. et al. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleífera*)** *Rev. Bras. Farm.*, 89(3)239-245, 2008.

LIRA, A.A.M. Estudo de permeação *in vitro* e Avaliação térmica de emugel tópico a base de lapachol. 2003, 81 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Ed. Platarum. P.287,1992.

LOURENÇO, A.R.N. **Administração tópica de fármacos – das restrições aos desafios.** 2013.51f. Dissertação (Mestrado). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2013.

MAIA, M.O.; QUEIROGAN, R.C.R.E.; MEDEIROS, N.A.; COSTA, R.G.; BONFIM, M.A.D.; FERNANDES, M.F. **Consumo, digestibilidade de nutrientes e parâmetros sanguíneos de cabras mestiças moxotó suplementadas com óleos de licuri ou mamona.** *Ciência Rural*, v.40, n.1, p.149-155, 2010.

MARTINS, M.R.F.M.; VEIGA, F. **Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas.** *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol.38, n. 1, jan/mar., 2002.

MORAIS, G.G.; SANTOS, O.D.H.; MASSON, D.S.; OLIVEIRA, W.P.; ROCHA FILHO, P.A. **Development of O/W emulsions with anatto oil (*Bixa orellana*) containing liquid crystal.** *Journal of Dispersion Science and Technology*, v.26, n.5, p. 591-596, 2005.

NOBLICK, L.R. **Palmeira das Caatingas da Bahia e as potencialidades econômicas.** Simpósio sobre a Caatinga e sua exploração racional, EMBRAPA, p.99-115, Brasília, 1986.

NUNES, R.S.; AZEVEDO, J.R.; VASCONCELOS, A.P.; PEREIRA, N.L. **Estudo da padronização da pele de cobra espécie – boa constrictor – como modelo de estrato córneo para permeação de fármacos.** *Scientia Plena* 1 (7):171-175, 2005.

OLIVEIRA, A.Z.M. **Desenvolvimento de formulações cosméticas com ácido hialurônico.** 2009. 97p. Dissertação Mestrado – Universidade do Porto – Porto

PATHAN, I.B.; SETTY, C.M. **Chemical penetration enhancers for transdermal drug delivery systems.** *Trop J Pharm Res*, 8(2):173, april, 2009

PEREIRA, L.J.B.; GARCIA-ROJAS, E.E. **Emulsões múltiplas: Formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v.45, n.1, p.155-162, jan, 2015.

PIANOVSKY, A.R. et al. **Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Vol.44, n.2, abr./jun.,2008.

PRAÇA, F.S.G. **Liberção e permeação *in vitro* de produtos transdermicos: um estudo metodológico de aparatos e de condições experimentais.**2010. 44 p. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto – Ribeirão Preto, 2010.

RESENDE, D. M. de; BACHION, M.M.; ARAÚJO, L.A.O. de. **Integridade da pele prejudicada em idosos : estudo de ocorrência numa comunidade atendida pelo Programa Saúde da Família.** Acta Paul Enferm,19(2):168-73, 2005.

RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E.A.G. **Química de Alimetos.** P. 194, 2004.

ROBERTS, M.S. et al. **Skin Hidration- a key determinant in topical absorption.**USA: Informa Healthcare, 2008. P. 115-128. 2008.

ROSA, J.; JESUS, D.; DUARTE, F.; LIMA, A.; PEREIRA, V. **Otimização e validação de estratégias analíticas para avaliação do teor do leite de coco do catolé.** Disponível em: <http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNEPI2010/paper/viewFile/81/124> Andgt; Acessado em: 28/07/2015

ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; QUINN, M. **Handbook of Pharmaceutical Excipients.**2013

RUFINO, M.U.L de.; COSTA,J.T de. M.; SILVA.V.A da.; ANDRADE, L de. H.C. **Conhecimento do uso de Ouricuri (*Syagrus coronata*) e do babaçu (*Orbignyaphalerata*) em Buíque, PE, Brasil.**Acta bot. bras. 22(4): 1141-1149. 2008

SASSON, C.S. **Influência de veículos cosméticos na permeação cutânea da associação de filtros solares e acetato de tocoferol.**2006. 111 p. Dissertação (Mestrado); Universidade federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SATOR, P.G. et al. **Comparison of epidermal hydration and skin surface lipids in healthy individuals and in patients with atopic dermatitis.**J AMAcadDermatol, V.48, N 3, Vienna, Austria, 2003

SEIXAS, K.; LEAL, L.B. **Caracterização Físico-química dos óleos de *Syagrus coronata* (Licuri) e *Syagrus cearenses* (Catolé),** 2011

SILVA da, S.P. et al. **Produção de biodiesel metílico de óleo de catolé por transesterificação alcalina.** XX Congresso Brasileiro de engenharia química, Florianópolis, Santa Catarina, 2014.

SILVA, J.A.; APOLINÁRIO, A.C.; SOUZA, M.S.R.; DAMASCENO, B.P.G.L.; MEDEIROS, A.C.D. **Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdermicas.**RevCiêncFarm Básica Apl. 31(3):125-131, 2010.

SILVA, M.V. **Determinação do EHL crítico do óleo de babaçu, avaliação da função hidratante e aplicações em emulsões tópicas como novo adjuvante lipofílico.** 1997. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 1997

SOUSA, G.D. **Óleo de licuri: Desenvolvimento de emulsões, avaliação do potencial de promoção da permeação cutânea e estudo clínico para avaliação de seus efeitos hidratantes na pele humana.** 2013. 92 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

STORPIRTS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C. **Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

TABOSA, M.A.M. **Microemulsões contendo lapachol: Desenvolvimento, caracterização e avaliação biofarmacêutica *in vitro* e *in vivo*.** 2014. 159 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

WANG, Y.Y.; HONG, C.T.; CHIL, W.T.; FANG, J.T. ***In vitro* and *in vivo* evaluations of tropically applied capsaicin and nonivamide from hydrogels.** International Journal of Pharmaceutics, V. 224, p. 84-104, 2001.

WISSING, S.A.; MULLER, R.H. **The influence of solid lipid nanoparticles on skin hydration and viscoelasticity – *in vivo* study.** European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 56, 67-72, 2003

ZANIN, S.M.W.; MIGUEL, M.D.; CHIMELLI, M.C.; OLIVEIRA, A.B. **Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) de óleos de origem vegetal.** Visão Acadêmica. V.3. p. 13-18, 2002.

ANEXOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada a participar da pesquisa: **Óleos de licuri(*syagruscoronata*), catolé (*Syagruscearensis*)emanga(*Mangifera indica*): avaliação dos seus efeitos hidratantes na pele humana.**

Se decidir participar, é importante que leia estas informações sobre o estudo e seu papel nesta pesquisa. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com esta instituição. Em caso de você decidir retirar-se do estudo, deverá notificar o pesquisador que esteja lhe atendendo. É preciso entender a natureza e os riscos da participação e dar seu consentimento livre e esclarecido.

OBJETIVO

Avaliar os efeitos da aplicação de formulações cosméticas contendo óleo de catolé e de amêndoas na pele de voluntários.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

As formulações serão aplicadas na pele do seu antebraço. Após a aplicação, você receberá um questionário de avaliação sensorial onde você deverá atribuir notas de 1 a 5 para cada formulação, considerando os parâmetros toque, espalhabilidade e sensação da pele. Em seguida, serão feitas medidas de hidratação cutânea, utilizando equipamento que avalia a pele de maneira **não invasiva**, ou seja, sem causar corte ou dor, pois possuem sondas especiais, que são somente encostadas na pele durante a leitura.

Importante: Você não poderá usar nos antebraços nenhum produto cosmético 4 horas antes dos experimentos.

Posteriormente, as formulações lhes serão fornecidas sem nenhum custo e deverão ser aplicadas por você em sua casa, 2 (duas) vezes ao dia, por 20 dias, sendo que você deverá retornar ao Centro de Pesquisa e Desenvolvimento (CP&D) do Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC), localizado no Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) após 20 dias do início do estudo, para nova avaliação da pele com o equipamento acima mencionado.

RISCOS E DESCONFORTOS

O Principal efeito esperado com o uso destas formulações é o aumento da hidratação cutânea. Porém, as formulações poderão eventualmente causar vermelhidão e/ou coceira, o que pode ocorrer com o uso de qualquer formulação cosmética, mas para a sua segurança haverá acompanhamento da pesquisa pela pesquisadora responsável pela mesma, sendo que, caso você venha a apresentar o menor sinal de alguma reação indesejável, você será imediatamente excluída da pesquisa e serão tomadas as providências necessárias para a recuperação do estado normal da sua pele e para que não fiquem seqüelas, os pesquisadores serão obrigados a arcar com as despesas necessárias para isto.

BENEFÍCIOS

Levando em consideração que o objeto deste trabalho trata da investigação da ação hidratante de óleos vegetais, vislumbrando sua aplicabilidade na área cosmética, estamos tratando do aproveitamento de recursos naturais com desenvolvimento sustentável e conseqüentemente desenvolvimento regional e contribuição social.

Você está sendo convidado a participar voluntariamente deste estudo, que visa avaliar a função hidratante de formulações cosméticas contendo óleos de catolé (*Syagruscearensis*).

A pesquisadora Leila Bastos Leal responsável por este estudo está a sua disposição para tirar todas as suas dúvidas antes e durante o estudo.

Em qualquer momento você poderá desistir dessa participação, sem que haja para tanto qualquer condição além de sua própria vontade.

Para que possamos fazer a pesquisa, precisamos de sua autorização. Se concordar em nos ajudar, assine este documento.

Os questionários utilizados no estudo serão armazenados em uma pasta no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento do NUDFAC/UFPE, sob responsabilidade do pesquisador principal.

Depois de ter recebido a explicação e tirado minhas dúvidas, concordo em participar da pesquisa **ÓLEOS DE LICURI (*SYAGRUS CORONATA*), CATOLÉ (*SYAGRUS CEARENSIS*) E MANGA (*MANGIFERA INDICA*): AVALIAÇÃO DOS SEUS EFEITOS HIDRATANTES NA PELE HUMANA**. Estou ciente de que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, e deixar de participar do estudo sem que isto me traga alguma penalidade ou prejuízo.

Nome:

Impressão digital

Assinatura do voluntário

Testemunha

Testemunha

Profa. Dra. Leila Bastos Leal
Pesquisadora Responsável

Recife, ___ de _____ de 2015.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Profa. Dra. Leila Bastos Leal

Contato: Av. Professor Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, Recife – PE, CEP: 50740-520 Tel. 3302-6593.

Contato com o Comitê de Ética: Avenida da Engenharia, s/n, 1º andar. Cidade Universitária, Recife – PE, CEP: 50670-600 Tel. 2126-8588.