



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

MARIA CRISTINA DA SILVA OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR DE UMA
EMULSÃO CREMOSA CONTENDO CAFEÍNA PARA O TRATAMENTO DA
LIPODISTROFIA GINÓIDE POR MASSAGEM.**

BRASÍLIA, 2018

MARIA CRISTINA DA SILVA OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR DE UMA
EMULSÃO CREMOSA CONTENDO CAFEÍNA PARA O TRATAMENTO DA
LIPODISTROFIA GINÓIDE POR MASSAGEM.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial para
obtenção do grau de Farmacêutico, na
Universidade de Brasília, Faculdade de
Ceilândia.

Orientador: Profa. Dra. Tais Gratieri

Co-Orientador: Profa. Dra. Lívia Cristina Lira de Sá Barreto

BRASÍLIA, 2018

Ficha catalográfica elaborada automaticamente, com
os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Sm332d Silva Oliveira, Maria Cristina
Desenvolvimento e avaliação da estabilidade preliminar
de uma emulsão cremosa contendo cafeína para o tratamento
da lipodistrofia ginóide por massagem. / Maria Cristina
Silva Oliveira; orientador Tais Gratieri; co-orientador
Livia Cristina Lira de Sá barreto. -- Brasília, 2018.
55 p.

Monografia (Graduação - farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2018.

1. . I. Gratieri, Tais, orient. II. Lira de Sá barreto,
Livia Cristina, co-orient. III. Título.

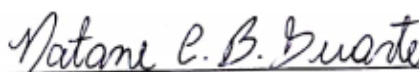
MARIA CRISTINA DA SILVA OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR DE UMA
EMULSÃO CREMOSA CONTENDO CAFEÍNA PARA O TRATAMENTO DA
LIPODISTROFIA GINÓIDE POR MASSAGEM.**

BANCA EXAMINADORA



Presidente: Prof(a). Livia Cristina Lira de Sá Barreto
(FCE/Universidade de Brasília)



Msc: Natane Castelo Branco Duarte
(FS/Universidade de Brasília)



Farmacêutica: Geisa Nascimento Barbalho
(FS/Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, 2018.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder força e coragem para conseguir realizar esta grande conquista. Obrigada Senhor por me mostrar que nada é impossível para Ti.

Ao meu esposo Fernando Jairo de Sousa, por me compreender todos esses anos, obrigada por não desistir de mim, obrigada por todo apoio.

A Davi Sousa Silva, minha maior riqueza, meu anjo da guarda, meu pilar. Meu filho você foi o combustível essencial para que eu pudesse dar continuidade à realização deste grande sonho. Tudo foi por você e para você, meu pequeno.

Aos meus pais Isabel Maria da Silva e Elias José de Oliveira, pessoas fortes a qual eu me espelho todos os dias. Obrigada, mãe por sempre me incentivar e me mostrar que, por mais a vida seja difícil, sempre há um Deus que não nos abandona. Ao meu padrasto Evertone de Sousa, meu pai de coração, obrigada por ter me criado com muito amor e carinho. Eu amo muito vocês.

A Josefa Maria de Jesus (tia nenzinha), por ter me acolhido na sua casa e na sua vida, obrigada por todos os conselhos e incentivos durante a minha trajetória acadêmica. A minha avó Eunice Maria da Silva, por todas as orações, por me passar coragem todas as vezes que entrei em desespero e recorri a ti.

As minhas orientadoras, as professoras Tais Gratierie Lívia Cristina Lira de Sá Barreto, pessoas que tenho profunda admiração e respeito. Obrigada pela paciência, conselhos e incentivos durante a realização do trabalho. A vocês a minha eterna gratidão.

Aos colegas do Laboratório de tecnologia de medicamentos alimentos e cosméticos, Tamara Ângelo, Sarah Emídio, Ricardo Ferreira e Geisa Barbalho. Obrigada por todas as vezes que me auxiliaram nos experimentos, pela contribuição nas tomadas de decisões para que este trabalho fosse realizado.

Aos amigos Thaynara Borges, Hellen Ramos, Lorena Silva, Lais Dourado, Ana Lídia, Jenyffer Ribeiro, Vitor Mariano, Weverson Alves, obrigada por tudo, ter vocês ao meu lado todo esse tempo foi muito importante.

Agradeço ao (LTMAC) pelo acolhimento, pelos ensinamentos que a mim foram passados por cada um dos pesquisadores do grupo. Aprendi muitas coisas com vocês.

Por fim, agradeço a toda família UnB-FCE por me acolher de braços abertos nesta instituição. Em especial às professoras Camila Alves Arede, Izabel Cristina Rodrigues da Silva, Emília Silva e Dayani Galato por todo apoio de sempre, por me entenderem como aluna, por todo incentivo, por todo carinho. Obrigada pelo apoio de vocês.

RESUMO

A cafeína, quando aplicada por via tópica, atua no tecido adiposo estimulando a lipólise das células de gordura. Dessa forma, consiste em um dos ativos mais utilizados em emulsões tópicas, aplicadas por massagem, para o tratamento da lipodistrofia ginóide (LDG), conhecida popularmente por celulite. Apesar do amplo emprego das emulsões como veículo farmacêutico de preparações tópicas, sua estabilidade, eficácia e segurança depende de vários fatores, inerentes à fórmula e ambientais. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar a estabilidade preliminar de emulsão semissólida, óleo em água (O/A), contendo cafeína para tratamento da LDG. A emulsão foi armazenada em diferentes condições climáticas ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$; $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $20\pm 5^{\circ}\text{C}$) por 15 dias. Parâmetros físico-químicos como características organolépticas, pH, índice de cremeação, condutividade elétrica, características microscópicas, variação de massa, densidade, espalhabilidade e permeação *in vitro*, foram avaliados. A emulsão apresentou características organolépticas aceitáveis durante todo o período de estudo de estabilidade preliminar, nas distintas condições climáticas testadas. Entretanto, a amostra armazenada em estufa, apresentou alteração de odor no 7º dia. No ensaio de permeação cutânea *in vitro* a concentração de cafeína no líquido receptor foi baixa ($25\ \mu\text{g/mL}$), impossibilitando possíveis efeitos sistêmicos do ativo. Na análise da espalhabilidade a formulação apresentou-se estável, com exceção das amostras armazenadas em temperatura ambiente que apresentaram decaimento ao longo do estudo. No entanto, a formulação apresentou variações significativas nos valores de densidade, condutividade e pH, essas alterações podem ter sido causadas pela falta de homogeneidade da cafeína no sistema emulsionado. Assim, o estudo sugere mudanças no método de incorporação da cafeína na base emulsionada para melhorar a estabilidade física.

Palavras-chave: *Lipodistrofia ginóide*, cafeína, emulsões, estabilidade preliminar, permeação.

ABSTRACT

Caffeine, when applied topically, acts on adipose tissue by stimulating lipolysis of adipocytes. Thus, with the compounds being used active ingredient in topical emulsions, by massage, for the treatment of gynoid lipodystrophy (LDG) or cellulitis. In addition, the use of emulsions as the pharmaceutical preparation, its stability, its fit and its safety depends on several factors, inherent to the formula and environmental. The present work aimed to develop and evaluate the stability of semisolid emulsion, oil in water, containing caffeine for the treatment of LDG. The emulsion was sterilized under different conditions ($5 \pm 2^\circ \text{C}$, $40 \pm 2^\circ \text{C}$ and $20 \pm 5^\circ \text{C}$) for 15 days. Physicochemical parameters such as organoleptic characteristics, pH, cream index, electrical conductivity, microscopic characteristics, mass variation, density, spreadability and in vitro permeation were evaluated. The emulsion was subjected to acceptable organoleptic conditions throughout the preliminary stability study period under the different climatic conditions tested. However, an emission received, suffered alteration of odor on the 7th day. No skin permeation reaction in vitro can occur in any liquid receptor ($25 \mu\text{g} / \text{mL}$), making it impossible to systematically process the active ingredient. The correlation analysis was stable, with the exception of samples stored at room temperature that decay throughout the study. However, one source of data was the values of density, conductivity and pH, which may be caused by the lack of homogeneity of caffeine in the emulsified system. Thus, the study suggests changes in the method of incorporating caffeine into the emulsified base to improve physical stability.

Keywords: Gynoid lipodystrophy, Caffeine, Emulsions, Preliminary stability, Permeation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados da avaliação organoléptica da emulsão O/A contendo cafeína durante o período de estudo de estabilidade preliminar.....	23
Tabela 2. Resultados das determinações de pH da emulsão O/A contendo cafeína para as diferentes condições de armazenamento durante estudo de estabilidade preliminar.....	25
Tabela 3. Resultados das determinações da condutividade elétrica (mS/cm) da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade em distintas condições climáticas.....	27
Tabela 4. Resultados das determinações da densidade (mg/mL) da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade em distintas condições climáticas.....	28
Tabela 5. Teor da cafeína (% p/p) na emulsão durante o estudo de estabilidade preliminar em três condições de estocagem.	30
Tabela 6. Concentração de cafeína ($\mu\text{g/mL}$) permeada na pele de orelha de porco após 6 horas.....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação das estruturas da pele.....	1
Figura 2. Fenômenos que levam a instabilidade das emulsões..	5
Figura 3. Fórmula estrutural da cafeína.....	8
Figura 4. Fórmula estrutural do mentol.....	10
Figura 5. Ilustração do procedimento para determinação da espalhabilidade da emulsão em estudo.	19
Figura 6. Fotografia ilustrativa da célula de difusão do tipo Franz modificada.	20
Figura 7. Fotografia ilustrativa do aspecto macroscópico da emulsão cafeína.....	22
Figura 8. Fotografia ilustrativa da emulsão O/A contendo cafeína após teste de centrifugação, indicando a ausência de instabilidade.....	24
Figura 9. Fotomicrografia em microscópio óptico da emulsão base e com cafeína incorporada, recém elaboradas.....	26

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais ativos utilizados no tratamento da lipodistrofia ginóide.....	7
Quadro 2. Composição (% p/p) e função farmacoténica dos componentes das emulsões preliminares ao desenvolvimento propriamente dito	15
Quadro 3. Composição da formulação com cafeína submetida ao estudo de estabilidade preliminar.....	16

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Resultados da espalhabilidade da emulsão O/A contendo cafeína para as diferentes condições de temperaturas	29
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

SIGLAS

AC- Álcool cetoestearílico

C.C- Câmara climática

CLAE- Cromatografia Líquida de alta eficiência

DP- Desvio Padrão

d- diâmetro

Ei- espalhabilidade

F-formulação

IBD-Instituto Biodinâmico

LDG- Lipodistrofia Ginóide

MB- Metossulfato de Behentrimônio

O/A- Óleo em água

pH – Potencial hidrogeniônico

T0- Tempo inicial

TAC- Triglicerídeo de ácido caprílico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Pele.....	1
1.2 Lipodistrofia ginóide (LDG).....	2
1.3 Veiculação de ativos sobre a pele: emulsão	4
1.3.1 Fatores responsáveis pela instabilidade das emulsões.....	5
1.4 Ativos utilizados no tratamento da LDG	6
1.4.1 Cafeína.....	7
1.4.2 Extrato de <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban.....	8
1.4.3 Extrato de <i>Aesculus hippocastanum</i> (Castanha da Índia).....	9
1.4.4 Mentol.....	9
1.5 Cosméticos ecológicos.....	10
2. JUSTIFICATIVA	12
3. OBJETIVO	13
3.1 Objetivo geral	13
3.2 Objetivos específicos.....	13
4. METODOLOGIA	14
4.1 Insumos utilizados.....	14
4.2 Equipamentos.....	14
4.3 Desenvolvimento da emulsão para massagem.....	14
4.4 Estudo de estabilidade preliminar da emulsão selecionada.....	16
4.4.1 Avaliação das características organolépticas.....	17
4.4.2 Avaliação físico-química.....	17
4.4.2.1 Teste de centrifugação	17
4.4.2.2 Determinação do pH.....	17

4.4.2.3 Condutividade elétrica	17
4.4.2.4 Avaliação microscópica	18
4.4.2.5 Determinação da densidade.....	18
4.4.2.6 Espalhabilidade	18
4.4.2.7 Determinação do teor da cafeína	19
4.5 Permeação cutânea <i>in vitro</i> da cafeína a partir da emulsão desenvolvida.....	19
4.6 Análise estatística dos resultados.....	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
5.1 Avaliação das características organolépticas	22
5.2 Avaliação físico-química.....	23
5.2.1 Teste de centrifugação.....	23
5.2.2 Determinação do pH.....	24
5.2.3 Avaliação microscópica	25
5.2.4 Condutividade elétrica.....	26
5.2.5 Determinação da densidade.....	27
5.2.6 Espalhabilidade	28
5.2.7 Determinação do teor da cafeína	30
5.3 Permeação cutânea <i>in vitro</i> da cafeína a partir da emulsão desenvolvida.....	30
6. CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS.....	35

1. INTRODUÇÃO

1.1 Pele

Devido a sua extensão, a pele é considerada o maior órgão do corpo humano. Este órgão possui múltiplas funções, e uma delas é a de atuar como uma barreira protetora impedindo a perda de água e que substâncias indesejáveis do meio externo penetrem no organismo. Além da função protetora, a pele ainda tem função de nutrição, pigmentação, termoregulação, absorção e regeneração tecidual (MEDONÇA & RODRIGUES, 2011). A pele é formada por três camadas de tecidos diferentes: epiderme (camada mais externa), derme (camada intermediária) e hipoderme (camada mais interna). Contendo também apêndices cutâneos como os folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas, conforme mostra a figura 1 (BOLZINGER, 2012).

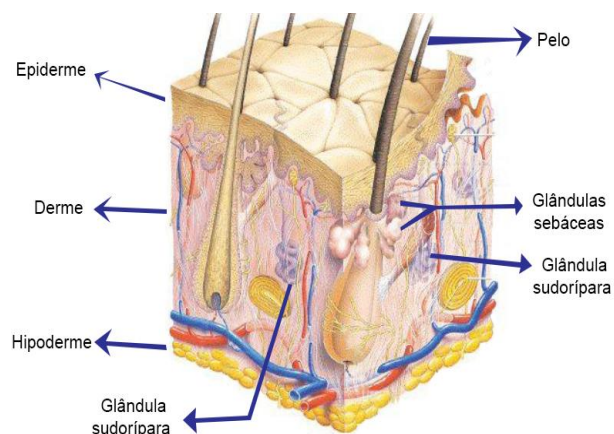


Figura 1. Representação das estruturas da pele. **Fonte:** Adaptado de Marieb, 2009.

A epiderme é formada por epitélio de revestimento estratificado pavimentoso queratinizado. É avascularizada e possui na sua constituição terminações nervosas livres e células provenientes da derme. Essa camada ainda possui cinco diferentes estratificações, que de dentro para fora do organismo consistem em: estrato basal, estrato granuloso, estrato espinhoso, estrato lúcido e estrato córneo (MORAES, 2006).

O estrato córneo está localizado mais externamente, formado por células sem núcleos e organelas, e essas células são formadas principalmente por queratina que

é uma proteína fibrosa. O estrato córneo age como uma barreira que limita a absorção cutânea de substâncias biologicamente ativas e protege o corpo contra a perda de água e também contra agentes químicos e físicos (MORAES, 2006).

A derme, que é a segunda camada da pele, está em contato com a hipoderme, é uma camada que é composta por tecido conjuntivo e apresenta uma alta vascularização. Esta camada ainda possui na sua constituição fibras elásticas que são formadas por elastinas que mantêm o tecido conjuntivo estável e também fibras de colágenos que confere sustentação a pele. A derme ainda se subdivide em derme papilar que é formada por tecido conjuntivo frouxo e derme reticular formado por tecido conjuntivo denso não modelado (SILVA, 2016).

A terceira camada, a hipoderme é constituída de células que são chamadas de adipócitos. Esta é a camada mais interna da pele e tem como principal função isolamento térmico e armazenamento de energia (SILVA, 2016). Os adipócitos que são as células que constituem esse tecido podem ser encontrados isoladamente ou agrupados dentro de septos de tecido conjuntivo que vão da origem a gordura localizada. Desencadeada por diversos fatores, a gordura localizada se encontra principalmente nas coxas, quadris e abdômen (KRUPEK, 2012).

1.2 Lipodistrofia ginóide (LDG)

A LDG, conhecida como celulite foi um termo que teve origem na década de 1920, e foi utilizado para descrever alterações na pele com aspecto de casca de laranja. A sua presença resulta no aumento da retenção de água e alguns íons gerando uma pressão nos vasos linfáticos, modificando a estrutura da pele (VIDAL & MOREIRA, 2015). É uma dermatose comum e indesejável, e é considerado um problema estético, que pode afetar a saúde mental, principalmente as mulheres. Aumento na ansiedade causando um desgaste físico e emocional, já foi relatado relacionado à celulite. Esses transtornos muitas vezes induzem a busca de procedimentos e uso de produtos prejudiciais à saúde (SANTOS, 2012).

A LDG pode estar associada a um processo inflamatório, no qual macrófagos e linfócitos são encontrados em biópsias de septos fibrosos (AFONSO et al., 2010). Dentre as regiões do corpo com maior incidência, encontram-se as nádegas e coxas, mas outras partes também podem ser acometidas, com predominância maior no gênero feminino (FRANÇA et al., 2016).

Apesar de a LDG afetar principalmente mulheres, crianças e homens podem ser afetados também, independentes do peso. Alguns fatores como estilo de vida sedentário, posições que impedem o fluxo sanguíneo normal, hábitos alimentares pouco saudáveis, predisposição genética, medicamentos frouxidão da pele após a perda de peso são importantes para o seu desenvolvimento (ALMEIDA, KILIAN & MOREIRA, 2015).

Um fator importante são as alterações anatômicas e hormonais, onde existe uma variação entre homens e mulheres com relação à estrutura dos lóbulos de gordura. A aparência de ondulações irregulares acomete com uma maior frequência as mulheres em relação ao homem, levando a hipótese de que os hormônios femininos desempenham um papel fundamental no desenvolvimento nessas alterações dermatológicas (AFONSO et al., 2010).

A LDG pode ser classificada em quatro graus de acordo com a gravidade clínica (LIMA et al, 2016):

Grau I: é caracterizada por pele lisa, na posição de pé não aparece nenhuma ondulação com aspecto de casca de laranja, não há alterações de sensibilidade;

Grau II: quando o indivíduo está em repouso a LDG está presente com aparência de ondulações;

Grau III: é visível em indivíduos na posição vertical, podendo ser exacerbado por aperto da pele;

Grau IV: apresenta as mesmas características do grau III e ainda a presença de nódulos que podem ser visíveis e dolorosos, pois as arteríolas podem ser atingidas.

Existem inúmeros métodos para o diagnóstico, estes podem variar de acordo com o valor e grau de complexidade, como micrografia, xenografia, medidas antropométricas e biópsias de pele (AFONSO et al., 2010).

O tratamento da celulite pode ser realizado através de métodos físicos, mecânicos e farmacológicos. Esses tratamentos podem ser classificados como invasivos e não invasivos. Os não invasivos ainda podem ser divididos nos que não usam substâncias ativas e os que envolvem o uso de substâncias ativas. Os não invasivos e sem substâncias ativas podem ser: massagens, onde envolvem métodos diversificados e dispositivos com luzes como, por exemplo, luz intensa pulsada (LIP)

Os mesmos tratamentos não invasivos podem ser realizados com o uso de substâncias ativas, com aplicação de produtos tópicos antes, durante ou após os

procedimentos, dependendo da particularidade de cada método (AFONSO et al., 2010).

Muitas das substâncias ativas utilizadas no combate a LDG agem sobre o tecido adiposo e tecido conjuntivo, realizando a lipólise ou degradação dos lóbulos de gordura. Entretanto, essa ação também depende da utilização de um veículo farmacêutico apropriado, que possibilite maior estabilidade à substância ativa, permita sua aplicação e ação local (LEONARDI e CHORILLI, 2010).

1.3 Veiculação de ativos sobre a pele: emulsão

Entre os veículos utilizados para carrear substâncias ativas dermatológicas, as emulsões são preferíveis entre os consumidores, devido sua aparência estética e facilidade de utilização e capacidade de incorporar e liberar de forma controlada diferentes princípios ativos (SIQUEIRA, 2016).

A emulsão é constituída por dois líquidos imiscíveis, sendo eles água e óleo ou solução orgânica, estabilizados por um agente emulsionante. Assim, o sistema disperso formado apresenta uma fase dispersa ou interna que se encontra dentro de uma fase dispersante, contínua ou externa. As emulsões podem ser classificadas como simples e múltiplas, conforme a composição das fases que a formam. Emulsões simples são do tipo óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O). Na primeira, a fase oleosa ou orgânica encontra-se dispersa na fase aquosa e na segunda ocorre o inverso. A emulsão múltipla possui uma composição mais complexa, com a dispersão de uma emulsão (O/A ou A/O) em uma fase, orgânica ou aquosa: O/A/O ou A/O/A (PEREIRA E GARCIA-ROJAS, 2015).

Os emulsificantes ou agentes emulgentes presentes na emulsão têm a função de reduzir a tensão entre as duas fases, aquosa e oleosa ou orgânica, estabilizando a emulsão e impedindo que aconteçam fenômenos de instabilidade, com consequente separação de fases (ZANON, 2010).

Os agentes emulsificantes do tipo tensoativos ou surfactantes são moléculas anfifílicas, que apresenta na sua estrutura uma cauda apolar, insolúvel em água e extremidades com características polares, solúvel em água. Quanto a sua origem, podem ser naturais ou sintéticos. Quanto a sua característica iônica, podem ser classificados em catiônicos, aniônicos, não iônicos e anfóteros (CASTRO, 2014).

1.3.1 Fatores responsáveis pela instabilidade das emulsões

A demanda por formulações estáveis, seguras e eficazes é inerente à área da saúde, em especial à indústria farmacêutica e cosmética, que exige da comunidade científica estudos cada vez mais elaborados e a utilização de técnicas mais eficientes (ISAAC, 2008). Sendo assim, as indústrias, antes mesmo de disponibilizá-los para o consumo, têm a responsabilidade de avaliar a estabilidade de seus produtos, como requisito fundamental à qualidade e à segurança dos mesmos (BRASIL, 2004).

A emulsão é considerada um sistema instável termodinamicamente devido às diferenças de densidade e a tensão interfacial entre as fases aquosa e a fase oleosa ou orgânica. Formação de nata (cremeação), sedimentação e floculação são fenômenos reversíveis de instabilidades que levam a desestabilização irreversível da emulsão, com a separação de fases, conforme mostra a figura 2 (SILVA et al, 2016).

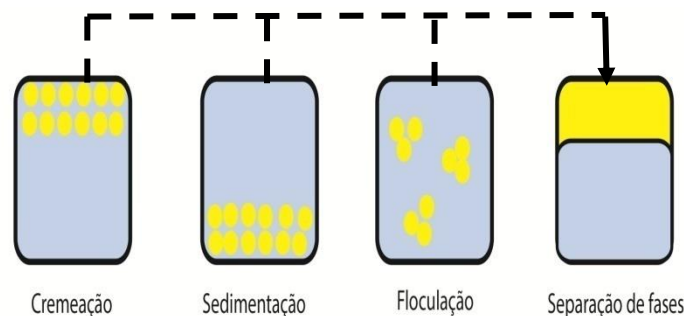


Figura 2. Fenômenos que levam a instabilidade das emulsões. **Fonte:** Adaptado de Topan, 2012.

Segundo a Farmacopeia Americana, uma emulsão é considerada estável quando mantêm as mesmas características físico-químicas e organolépticas durante o desenvolvimento, após o desenvolvimento e durante o tempo que será armazenada e utilizada (ZANON, 2010).

Entretanto, além das características físico-químicas e organolépticas, a estabilidade microbiológica, toxicológica e/ou terapêutica, também devem ser consideradas e podem ser alteradas por fatores intrínsecos e extrínsecos à formulação, como (CASTRO, 2014):

- Incompatibilidade entre componentes da fórmula;
- Incompatibilidade da fórmula com o envase primário;

- Temperatura—elevação da temperatura, em geral, proporciona aumento da velocidade de degradação dos insumos, com conseqüentes alterações químicas (oxidação, decaimento de teor de ativo, por exemplo) e físicas (organolépticas e reológicas, por exemplo). A redução da temperatura pode levar a perda da estabilidade física, como a cremeação e sedimentação, por exemplo;
- Umidade—quando em envase não hermético, a formulação fica susceptível às condições climáticas do ambiente em que se encontra. A elevação da umidade proporciona a degradação química (reações de hidrólise, por exemplo) e degradação microbiológica (meio adequado para crescimento de microrganismos). Enquanto que a redução da umidade, proporciona alterações físicas, com a perda de água da formulação e/ou dessecação na superfície do produto;
- Luz—provoca a degradação química do produto (substâncias fotossensíveis, por exemplo) e
- Ar—inserido durante o processo produtivo ou devido ao espaço entre a formulação e tampa do envase primário, provoca a degradação química (reação de oxidação, por exemplo) do produto e/ou alteração física (competição entre as fases pelo agente emulgente).

Busca-se através dos testes de estabilidade avaliar se o produto irá manter as características físicas, químicas e microbiológicas originais. Os estudos de estabilidade fornecem indicações sobre o comportamento do produto, em determinado intervalo de tempo, frente a condições ambientais a que possa ser submetido, desde a fabricação até o término da validade (ANVISA, 2004). No estudo de estabilidade os principais testes aplicados são centrifugação, viscosidade, determinação da condutividade elétrica e pH (CASTRO, 2014). Estes testes são realizados antes e depois do produto ser armazenado em diferentes condições climáticas, que são submetidos a testes preliminares, também chamados de teste de triagem com duração de quinze dias, e a testes de estabilidade acelerado que tem duração mínima de noventa dias para produtos cosméticos (BRASIL, 2004).

1.4 Ativos utilizados no tratamento da LDG

Comumente, o tratamento tópico para a LDG consiste na administração de

ativos cosméticos naturais e/ou sintéticos. As substâncias, geralmente, são veiculadas em formas semissólidas tópicas, que permitem facilidade de aplicação e podem proporcionar penetração nas camadas mais profundas da pele. É sabido que a associação de ativos presentes em emulsões cremosas em associação com massagens modeladoras apresenta resultados que são visivelmente satisfatórios, por ter as propriedades de atuar na lipólise, microcirculação e melhorara aparência da pele (FRANÇA, 2016; MAGALHÃES, 2013).

A literatura mostra diversos tipos de princípios ativos, sejam eles naturais e/ou sintéticos que são eficazes no tratamento da LDG, assim como também as indústrias de cosméticos apresentam estes ativos nas suas formulações. O quadro 1 apresenta algumas marcas de cosméticos que utilizam estes princípios ativos para o tratamento da LDG.

Quadro 1. Alguns produtos comercializados no Brasil para o tratamento da lipodistrofia ginóide.

MARCA	NOME COMERCIAL	SUBSTÂNCIA(S) ATIVA(S)
Anna pegova	CelSlim 12 h	Cafeína
Vichy	Celludestock	Cafeína
Ada tina	Claffeise AB	Cafeína, Carnitina, mentomentol
Goicoechea	-	Centelha asiática /castanha da Índia
L'oréal	PerfectSlim	Cafeína

Fonte: Próprio autor, 2018.

1.4.1 Cafeína

A cafeína é um pseudoalcalóide pertencente ao grupo das metilxantinas. É uma substância bastante conhecida devido a sua presença natural no café (sementes de *Coffea arábica*, *Coffea canephora*, e *Coffea liberica*, por exemplo), na erva mate (*Ilex paraguariensis*), no chá preto (*Camellia sinensis*), no cacau (*Theobroma cacao*) e no guaraná (*Paullinia cupana*). Neste último vegetal, as quantidades encontradas nas sementes dessecadas variam entre 6,2% a 8,0% (MAGALHÃES, 2013).

A cafeína, natural ou sintética, tem aparência de um pó branco cristalino, acicular, solúvel em água em ebulição e em metanol. Quando aplicado topicamente, atua no tecido adiposo estimulando a lipólise das células de gordura. A lipólise nada

mais é do que a degradação dos triglicerídeos pelas lipases, que são enzimas responsáveis por este processo (SASIL, 2009).

A ação de lipólise se dá pela mobilização dos ácidos graxos livres e ainda pelo aumento dos níveis de adenosina monofosfato cíclica (AMPc) e por inibição da fosfodiesterase. Com essa inibição, o AMPc age como um segundo mensageiro celular estimulando a enzima lipase a obter a quebra dos triglicerídeos que são armazenados nos adipócitos (KRUPEK, 2012). A concentração máxima de cafeína permitida pela Agência Nacional de vigilância Sanitária em produtos cosméticos é de 8%, e as demais xantinas no máximo 4% (ANVISA, 2002). O uso de uma concentração máxima de cafeína não permite uma alta penetração de cafeína nas barreiras cutâneas da pele, pois as características físico-químicas deste ativo dificultam a sua penetração (FREIRE, 2017). A cafeína ainda atua no tecido adiposo estimulando a drenagem linfática, removendo o acúmulo de gordura e substâncias que possam surgir durante o processo de lipólise, além de melhorar a circulação do sangue (PIRES-E-CAMPOS et al., 2008). A cafeína tem uma ampla aplicação terapêutica, sendo utilizada com maior frequência por via oral como estimulante, no tratamento da dor, podendo ainda aumentar e prolongar o efeito de outras substâncias analgésicas (TAVARES & SAKATA, 2012).

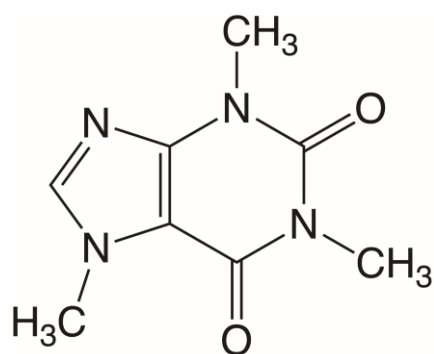


Figura 3. Fórmula estrutural da cafeína. Fonte: Reis, 2013.

1.4.2 Extrato de *Centella asiática* (L.) Urban

A *Centella asiática* (L.) Urban é uma erva rasteira de folha simples, o seu extrato glicólico é um líquido límpido, castanho claro alaranjado, de odor característico, solúvel em etanol, propilenoglicol e água, com vasta utilização em produtos cosméticos (VALDEQUÍMICA, 2015).

A *Centella asiatica* tem ação antiinflamatória, antibacteriana, cicatrizante, antioxidante e reguladora de tecido conjuntivo (LORENZI & ABREU MATOS, 2008). Essas ações permitem que o extrato de suas folhas seja utilizado em preparações cosméticas destinadas ao tratamento tópico da celulite, com concentrações variando entre 3 a 5 % no produto (COSTA, 2016).

Essa droga vegetal apresenta em sua composição o asiaticosídeo, o ácido madecássico e o ácido asiático. Esses três compostos atuam no tecido conjuntivo, acelerando a integração do metabolismo de aminoácidos que são essenciais na estruturação do colágeno. O vegetal também apresenta flavonóides que vão agir sobre a microcirculação, reduzindo edemas e gorduras localizadas.

1.4.3 Extrato de *Aesculus hippocastanum* (Castanha da Índia)

A castanha da Índia é uma planta nativa do Oeste da Ásia e cultivada em vários países devido aos benefícios medicinais de suas sementes. Seu extrato apresenta pH variando entre 3,5 a 5,5, sendo insolúvel em água (VALDEQUÍMICA, 2015). O extrato seco apresenta-se como um pó fino, bege, higroscópico e com odor característico. Sua composição química é bastante complexa, mas apresenta como componente majoritário e marcador taxonômico a escina, uma saponina triterpênica. A escina possui propriedades antiinflamatórias, e antivaricosa (MELO et al., 2007). Na celulite, este componente vai agir diminuindo a permeabilidade capilar e atividade enzimática lisossomal (LEONARDI & CHORILLI, 2010).

Flavonóides como rutina e esculina também estão presentes na castanha da Índia. Esses compostos agem sobre processos inflamatórios, impedindo a liberação de mediadores como prostaglandinas e leucotrienos, melhorando o fluxo sanguíneo por redução da permeabilidade capilar, diminuindo também a inflamação e dor. Outra consequência da inibição destes mediadores é o estímulo da lipólise e produção de colágeno e elastina, mediado principalmente pela rutina (MAGALHÃES, 2013).

1.4.4 Mentol

O mentol é um álcool monoterpênico, componente majoritário da menta (*Mentha arvensis* (L.) e *Mentha canadensis*). Sua extração ocorre principalmente

através do processo de destilação por arraste a vapor, devido a sua característica volátil (DESCHAMPS et al., 2013). A sua aparência física é de um cristal incolor, acicular, com forte odor de menta, insolúvel em água e muito solúvel em etanol (GARDEN QUÍMICA, 2014). O mentol também pode ser obtido de forma sintética e é tipicamente utilizado para produção de pastilhas e inalantes nasais. Atua como anestésico, sedativo, gastroprotetor e antipuriginoso (GARLET, 2007).

O mentol quando aplicado sobre a pele atua como vasodilatador, analgésico e calmante, pois proporciona refrescância. A concentração máxima permitida em formulações cosméticas é de 1% devido às reações de hipersensibilidade, como consta no parecer técnico da ANVISA nº 8, de 1º de novembro de 2005 (SILVA, 2011).

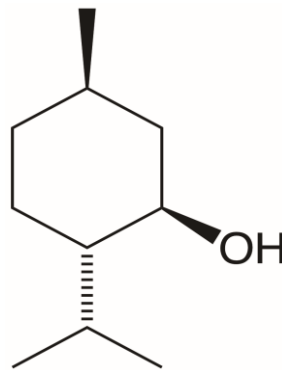


Figura 4. Fórmula estrutural do mentol. **Fonte:** Martínéz, 2016.

1.5 Cosméticos ecológicos

A busca por produtos cosméticos produzidos com excipientes que são obtidos a partir de recursos sustentáveis tem crescido bastante nos últimos anos, e vem se destacando por serem produzidos com matérias-primas naturais ou orgânicas. O consumidor está buscando cada vez mais produtos que reduzem danos que podem ser causados tanto ao meio ambiente, quanto a sua saúde (SILVA et al., 2013).

Um cosmético é considerado ecológico quando é constituído de 95% de matérias-primas orgânicas, estes insumos devem ser reconhecidos pelos órgãos de certificação. O sal e a água são constituintes que não são levados em consideração como componentes que devem ser orgânicos. Já os produtos naturais, devem apresentar 95% de matérias-primas de origem natural, e os outros 5% deve ser

composto de matéria-prima orgânica. Ainda tem aqueles cosméticos que são formulados com ingredientes orgânicos, que constituem 70% da formulação (LYRIO, 2011).

O Instituto Biodinâmico (IBD) e ecocert são órgãos responsáveis pela certificação destes produtos. Esses órgãos proíbem o uso de pesticidas, os testes em animais, e ainda exigem comprovação de segurança para saúde do consumidor. Vale ressaltar que o desenvolvimento deste tipo de produto não é fácil, pois as matérias-primas nem sempre estão disponíveis no mercado, e muitas vezes os produtos não orgânicos que são utilizados não são compatíveis com os outros componentes da fórmula (FERNANDES et al., 2013).

2. JUSTIFICATIVA

A LDG é uma alteração indesejável na pele, que proporciona um desgaste físico e emocional, principalmente em mulheres. Assim, muitas vezes as pessoas afetadas buscam tratamentos e/ou produtos que não são seguros e que podem causar prejuízos maiores, tanto financeiros como físicos e psicológicos.

Nos últimos anos o mercado da cosmética cresceu bastante, e um dos fatores ligados a este crescimento é a inovação de produtos. Uma vez que estes produtos apresentam em suas formulações uma variedade de excipientes e princípios ativos, é imprescindível que os mesmos sejam de boa qualidade. Os principais parâmetros a serem analisados no desenvolvimento de um novo produto cosmético para que seja seguro e eficaz são a estabilidade e compatibilidade entre seus componentes (COSTA & ALVES, 2009).

Sendo assim, o estudo fornecerá os dados de estudos preliminares uma formulação cosmética (emulsão cremosa) que possibilitará sua aplicação por massagem para tratar a LDG, como também permitirá a manutenção das características de qualidade físico-química requeridas ao seu uso tópico.

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Desenvolver uma emulsão semissólida estável destinada ao tratamento por massagem da lipodistrofia ginóide.

3.2 Objetivos específicos

- Desenvolver a emulsão com produtos listados pelo instituto biodinâmico (IBD);
- Avaliar a qualidade e quantidade de insumos necessários ao desenvolvimento de uma emulsão estável;
- Avaliar os benefícios aportados à emulsão desenvolvida com a incorporação de cafeína;
- Avaliar a capacidade de permeação *in vitro* da cafeína a partir da emulsão desenvolvida.

4. METODOLOGIA

Os materiais utilizados para o desenvolvimento e estudo da permeação e estabilidade da formulação foram disponibilizados no Laboratório de Tecnologia de Medicamentos, Alimentos e Cosméticos (LTMAC).

4.1 Insumos utilizados

Água ultrapura (sistema de purificação Milli-Q), ácido benzóico (SIGMA-ALDRICH), ácido fosfórico (TEDIA BRAZIL LTDA), cera de abelha (PRÓ-QUÍMICA®), triglicerídeo de ácido caprílico (DINÂMICA®), sorbitol (INGREDION IDEA LABS™/), metossulfato de behentrimonio+álcool cetostearílico (BRASQUIM), metanol (TEDIA BRAZIL LTDA), proteínas hidrolisadas do leite (COSMOTEC INTERNATIONAL), cafeína (SIGMA-ALDRICH).

4.2 Equipamentos

Balança analítica (SHIMADZU MOD. AUW220D), refrigerador (ELETROLUX MOD. 370), centrífuga (CENTRIBIO MOD.TDLSO-2B), pHmetro (DIGIMED MOD.DM-22), condutivímetro (GEHAKA MOD.CG-1800), câmara climática (NOVA ÉTICA MOD. 420-CLDTS 300), cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC-SHIMADZU LC 20-AD), microscópio (EVOS MOD. FL AUTO), placa aquecedora (FISATOM MOD.752A), picnômetro de metal.

4.3 Desenvolvimento da emulsão para massagem

Foram elaboradas 18 emulsões, cujas composições encontram-se descritas no quadro 2.

Quadro 2. Composição (% p/p) e função farmacotécnica dos componentes das emulsões preliminares ao desenvolvimento propriamente dito.

Fases	Componentes	Função Farmacotécnica	Composição % (p/p) das emulsões preliminares																	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Aquosa	Água ultrapura	Veículo	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	Qs p	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp	qsp
	Sorbitol	Umectante	2	2	8	8	2	8	2	8	8	8	2	2	8	2	8	2	8	8
	Acido Benzóico	Conservante	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Orgânica	Ácido esteárico	Espessante	6	10	6	6	10	10	6	10	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cera de abelha	Espessante Lipofílico	1	1	3	5	1	5	5	5	5	1	1	1	1	5	1	5	5	5
	TAC	Espessante	13	13	13	13	13	13	13	13	13	1	1	1	1	3	3	3	3	3
	Goma xantana	Espessante /estabilizante	2	2	2	5	2	5	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Proteínas hidrolisadas do leite	Emoliente	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-
Emulgente	Tween 80	-	3	3	3	3	3	3	3	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	
Emulgente	MB + AC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	5	11	5	5	11	11	5	11

Nota: (-) sem este componente. (qsp) quantidade suficiente para o volume total de produto elaborado. (MB + AC) Metossulfato de Behentrimônio + Alcool cetoestearílico. (TAC) Triglicerídeo de ácido caprílico. Em destaque as fórmulas das emulsões para início do estudo.

Fonte: Própria autora, 2018.

Inicialmente duas emulsões (1 e 10, *cf.* quadro 2) com tensoativos diferentes foram elaboradas, e a partir dessas duas bases emulsionadas, realizaram-se modificações nas concentrações dos componentes, totalizando dezoito formulações distintas (*cf.* quadro 2). A emulsão objeto de estudo foi selecionada entre as 18 (emulsão 10, *cf.* quadro 2), através de análise visual do aspecto e consistência.

Todas as emulsões foram elaboradas de acordo com metodologia tradicional (ALLEN, 2007). Após pesagem dos insumos, cada fase, aquosa (A) e oleosa (O), foi submetida ao aquecimento até aproximadamente 75-80°C. Após a solubilização e/ou fusão dos componentes, a fase aquosa foi vertida sobre a oleosa, sob agitação lenta, porém constante, até arrefecimento, utilizando banho de gelo para auxiliar na redução da temperatura (ALLEN, 2007). (*cf.* quadro 3).

Quadro 3. Composição da formulação com cafeína submetida ao estudo de estabilidade preliminar.

FASE OLEOSA		
COMPONENTE	FUNÇÃO FARMACOTÉCNICA	CONCENTRAÇÃO
Cera de abelha	Espessante	1
MB + AC	Tensoativo	10
TAC	Espessante	1
Milk tein	Emoliente	3
FASE AQUOSA		
Sorbitol	Umectante	8
Ácido benzóico	Conservante	0,5
Cafeína	Ativo	7
Água	Veículo	q.s.p

Nota: (MB + AC) Metossulfato de Behentrimônio + Álcool cetosteárico. (TAC) Triglicerídeo de ácido caprílico. (qsp) quantidade suficiente para o volume total de produto elaborado.

Fonte: Própria autora, 2018.

4.4 Estudo de estabilidade preliminar da emulsão selecionada

Após produção, a emulsão foi envasada em potes plásticos com tampa rosqueável, e armazenada em distintas condições climáticas: geladeira (5±2°C), câmara climática (40±2°C e 75% UR) e temperatura ambiente (20±5°C) (BRASIL, 2004).

Análises organolépticas e físico-químicas como: centrifugação, determinação do pH, aspecto microscópico, condutividade elétrica, densidade, determinação do

teor de cafeína e espalhabilidade foram realizadas após 1, 7 e 15 dias após produção e armazenamento.

4.4.1 Avaliação das características organolépticas

As propriedades organolépticas avaliadas foram aspecto, cor e odor. Sendo utilizados como referências os parâmetros avaliados antes da submissão às distintas condições climáticas usadas no estudo de estabilidade preliminar (BRASIL, 2004).

4.4.2 Avaliação físico-química

4.4.2.1 Teste de centrifugação

A fim de analisar possíveis instabilidades como cremeação, floculação, sedimentação e separação de fases, a emulsão foi submetida ao teste de centrifugação, que proporciona um estresse forçado, devido ao aumento da força da gravidade e mobilidade das gotículas da fase interna (BRASIL, 2004). Amostras de 1,5mL, da emulsão base ou da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade, foram colocadas em tubos Falcon e submetidas a 4.000 rpm, em centrífuga (CENTRIBIO MOD.TDLSO-2B), durante 10 minutos a temperatura ambiente.

4.4.2.2 Determinação do pH

A determinação de pH da emulsão base ou da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade foi realizada em pHmetro digital de bancada, previamente calibrado com soluções tampões de pH 7,0 e 4,0. A leitura, em triplicata, foi realizada com a colocação do eletrodo em contato com a amostra diretamente na embalagem primária (ROCHA, 2016).

4.4.2.3 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica da emulsão base ou da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade foi aferida com o condutímetro de bancada, previamente calibrado com solução padrão. A leitura, em triplicata, foi realizada com a colocação do eletrodo em contato com a amostra diretamente na embalagem primária (LIMA et al., 2008).

4.4.2.4 Avaliação microscópica

A análise microscópica da emulsão base ou da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade através do uso de um de microscópio óptico. Uma alíquota da emulsão foi corada com um corante de cor laranja, e depois colocada em uma lâmina coberta com lamínula e analisada em uma objetiva de 10 x de aumento. Através de um software adequado foi possível obter as imagens (SIQUEIRA, 2016). Essa análise foi realizada no laboratório de nanobiotecnologia-GEM.

4.4.2.5 Determinação da densidade

Para a análise da densidade, da emulsão base ou da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade, utilizou-se um picnômetro de aço inoxidável de 25 mL. Primeiramente pesou-se o picnômetro vazio, depois colocou-se a emulsão de modo a preenchê-lo e pesou-se novamente.

A densidade (D) foi calculada através da equação 1.

$$D (mg/mL) = \frac{M_{pe} - M_p}{25}$$

Onde, M_p é a massa do picnômetro vazio e M_{pe} é a massa do picnômetro com a emulsão.

4.4.2.6 Espalhabilidade

A espalhabilidade da emulsão base ou da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade foi aferida utilizando um aparato com 5 placas de vidro sobrepostas à amostra, cujo procedimento encontra-se ilustrado na figura 5.

A emulsão foi inserida previamente no aparato com auxílio de uma placa molde circular de vidro (diâmetro de 20 cm e espessura de 0,2 mm), com orifício central de 1,2 cm de diâmetro. A placa molde foi posicionada sob uma placa suporte de vidro e abaixo desta colocou-se uma folha de papel milimetrado para possibilitar a aferição. Após remoção cuidadosa da placa molde foram colocadas 5 placas de vidro sobre a amostra, em intervalos de 1 minuto. A cada inserção de placa, foi

realizada a medição do diâmetro, nos sentidos horizontal e vertical, do círculo formado pela amostra.

As placas de vidro sobrepostas à amostra apresentavam as seguintes massas: 299,95 g, 301,02 g, 308,79 g, 309,42 g e 336,68 g. (LANGE, HERBELE e MILÃO, 2009).

A espalhabilidade (Ei) foi calculada através da equação 2.

$$Ei (mm^2) = \frac{d^2 \times \pi}{4}$$

Onde, d é a média dos diâmetros horizontal e vertical.

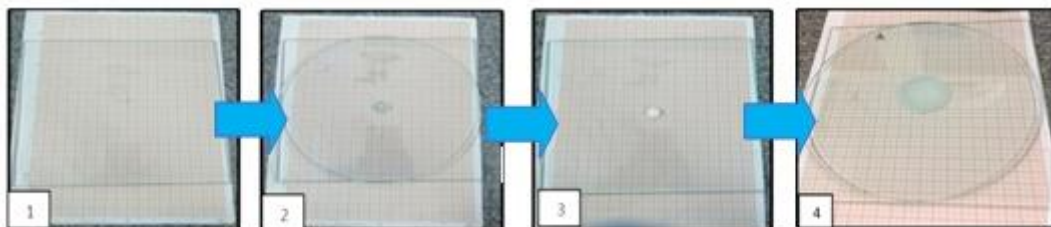


Figura 5. Ilustração do procedimento para determinação da espalhabilidade da emulsão em estudo. 1) Placa suporte sobre papel milimetrado; 2) Placa molde sobre placa suporte; 3) Retirada da placa molde após inserção e nivelamento da emulsão no orifício da placa molde e 4) Inserção de placas de vidro sobre a amostra.

Fonte: Própria autora, 2018.

4.4.2.7 Determinação do teor da cafeína

Conhecendo a concentração teórica da cafeína, realizou-se uma diluição para que a concentração final fosse 10 µg/mL através da equação 4:

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Onde:

C1= Concentração inicial antes da diluição

V1= Volume inicial

C2= Concentração final

V2= Volume final

Pesou-se 0,05 da formulação e diluiu-se em metanol em um balão volumétrico de 100 mL, posteriormente colocou-se em banho de ultrassom por 10

minutos. Diluiu-se novamente em um balão volumétrico de 5 mL, homogeneizou-se e em seguida filtrou-se em uma membrana de 0,45 μm e posteriormente transferiu-se para um vial de vidro de 1,5 mL. Foi injetada a amostra de acordo com as condições cromatográficas validadas em um comprimento de onda de 280 nm em CLAE. Por meio das áreas de picos, obteve-se as concentrações. O método de quantificação da cafeína foi validado no equipamento de CLAE em uma coluna de fase reversa C18 (3,9 mm x 300 mm, 10 μm), fase móvel: metanol: ácido fosfórico e volume de injeção: 10 μl .

4.5 Permeação cutânea *in vitro* da cafeína a partir da emulsão desenvolvida

Para a realização do estudo de permeação *in vitro* da cafeína utilizou-se um método analítico previamente validado no LTMAC. Utilizou-se células de difusão do tipo Franz com pele de orelha suína que ficou entre os compartimentos doadores e receptores. No compartimento doador foi adicionado a formulação, e o compartimento receptor foi preenchido com solução tampão fosfato, pH 7,4. A permeação teve duração de 6 horas. Para analisar as concentrações de fármaco retidas a pele total foi picotada e transferida para frascos contendo 5mL de metanol para extração do fármaco durante 24 horas. As alíquotas foram filtradas em membranas de 0,45 μm e armazenadas em frascos para análise quantitativa do fármaco permeado por CLAE. O experimento foi realizado em quintuplicata.



Figura 6. Fotografia ilustrativa da célula de difusão do tipo Franz modificada.

Fonte: Própria autora, 2018.

4.6 Análise estatística dos resultados

Os valores de pH, condutividade elétrica, densidade e espalhabilidade foram submetidos a análise estatística. Utilizou-se o método de análise de variância a dois caminhos (ANOVA), o nível de significância foi de 95%. O programa estatístico utilizado foi o Graphprism versão 7.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A emulsão base apresentou estética agradável, coloração branca, aspecto cremoso e odor característico de cera de abelha. Nos ensaios de centrifugação não foram observados fenômenos de instabilidades.

Com relação aos demais parâmetros físico-químicos avaliados como pH, condutividade elétrica e aspecto microscópico também não foram observadas alterações.

A emulsão base apresentou densidade em torno de 1,06 mg/mL, e sua espalhabilidade variou de 2.000 a 3.200 mm².

5.1 Avaliação das características organolépticas

As características organolépticas foram avaliadas através de uma análise simples e comparativa antes e depois da amostra ser submetida a condições distintas de temperatura.

A avaliação organoléptica é detectada pelos órgãos dos sentidos, e possibilita uma análise rápida do estado em que a formulação se encontra, evitando que este produto chegue até ao consumidor apresentando algum sinal de instabilidade. Características macroscópicas como cor, odor e aspecto que são comparadas desde o tempo inicial até o final do estudo para observar possíveis alterações (MORAES & CANUTO, 2011).

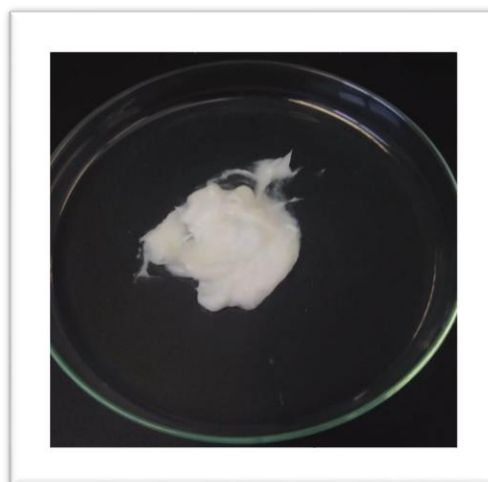


Figura 7. Fotografia ilustrativa do aspecto macroscópico da emulsão contendo cafeína.

Fonte: Própria autora, 2018.

A formulação manteve as mesmas características organolépticas (*cf.* Tabela 2) durante todo o período de estudo, com exceção da amostra armazenada em estufa analisada no 7º dia, que apresentou uma leve modificação no odor, possivelmente devido a problemas de vedação do envase primário, expondo o produto e possibilitando a volatilização de componentes.

Terra et al., (2009) observaram no desenvolvimento de uma formulação cosmética contendo cafeína para o tratamento da LDG, alterações na coloração do produto armazenado à 40 °C, a partir do 15º dia, em um estudo com duração total de 28 dias. O autor concluiu que essa alteração na coloração ocorreu em consequência da oxidação dos componentes da formulação, devido à exposição a elevadas condições de temperaturas.

Tabela 1. Resultados da avaliação organoléptica da emulsão O/A contendo cafeína durante o período de estudo de estabilidade preliminar.

Tempo de armazenamento (dias)	Condição climática (equipamento ou local)	Caracteres organolépticos		
		COR (Branca)	ASPECTO (Cremosa)	ODOR (Cera de abelha)
1	5 ± 2°C (geladeira)	-	-	-
	40 ± 2°C (C.C)	-	-	-
	20 ± 5°C (ambiente)	-	-	-
7	5 ± 2°C (geladeira)	-	-	-
	40 ± 2°C (C.C)	-	-	Alterado
	20 ± 5°C (ambiente)	-	-	-
15	5 ± 2°C (geladeira)	-	-	-
	40 ± 2°C (C.C)	-	-	-
	20 ± 5°C (ambiente)	-	-	-

Nota: (-) sem alteração. (C.C) câmara climática.

Fonte: Própria autora, 2018.

5.2 Avaliação físico-química

5.2.1 Teste de centrifugação

A centrifugação é um teste de triagem que tem por objetivo verificar com antecedência algum tipo de instabilidade do sistema emulsionado, como cremação, floculação, sedimentação ou separação de fases. Através de um estresse forçado, ocorrerá um aumento na movimentação das gotículas da fase interna em consequência do aumento da força da gravidade (SOUZA, 2013). Mesmo que a emulsão formulada não apresente separação de fase durante essa análise, não é

possível afirmar que é estável. Esse teste apenas norteia o manipulador com respeito à necessidade ou não de reformulação (ISAAC et al., 2008).

Os resultados obtidos através deste estudo foram satisfatórios, uma vez que a formulação não apresentou nenhum fenômeno reversível ou irreversível de instabilidade, indicando assim, que as concentrações dos constituintes são adequadas para que o produto se mantenha estável (cf. Figura 8). Portanto, a emulsão foi submetida ao estudo de estabilidade preliminar.



Figura 8. Fotografia ilustrativa da emulsão O/A contendo cafeína após teste de centrifugação, indicando a ausência de instabilidade. **Fonte:** Própria autora, 2018.

5.2.2 Determinação do pH

Durante o desenvolvimento de uma formulação cosmética de uso tópico é de suma importância realizar a análise do pH, pois através desta análise é possível obter informações de possíveis alterações que podem comprometer o seu uso e, assim, evitar que o mesmo seja aplicado na pele. A fim de manter o pH da emulsão semelhante ao da pele, soluções tampões podem ser utilizadas para ajustar estes valores, com tanto que não alterem as propriedades da formulação. O pH da formulação foi ajustado de acordo com os valores sugeridos pela Farmacopeia Brasileira, que pode variar de 4,0 a 6,6 (BRASIL, 2010).

Diversos fatores podem levar a alteração do pH de uma formulação como tempo de estocagem, condições inadequadas de transporte e armazenamento, e

inclusive altas temperaturas que podem levar a instabilidade como desidratação e decomposição da amostra em estudo, interferindo assim no valor do pH (RABELLO, 2014).

Segundo Silva et al., (2009), para que o pH de uma formulação se mantenha estável, ele deve ser ajustado ao pH dos ativos utilizados, e também ser semelhante ao de produtos que são destinados a aplicação cutânea que pode variar de 5,5 a 8,0. Assim, sugere-se a repetição deste ensaio, para que o pH seja ajustado a um valor que seja compatível com o pH cutâneo.

Tabela 2. Resultados das determinações de pH da emulsão O/A contendo cafeína para as diferentes condições de armazenamento durante estudo de estabilidade preliminar.

TEMPO DE ARMAZENAMENTO (DIAS)	POTENCIAL HIDROGENIÔNICO		
	40 ± 2°C Estufa	5 ± 2°C Geladeira	20 ± 5°C Ambiente
1	6,6 ± 0,1	6,6 ± 0,1	6,6 ± 0,1
15	5,6± 0,0	5,7±0,1	7,3 ± 0,1

Nota: os resultados foram expressos como média das três medições ± desvio padrão. Em destaque os valores de pH em condições equivalentes.

Fonte: Própria autora, 2018.

O armazenamento nas condições ambientais proporcionou aumento de pH ($p < 0,0001$), enquanto que as demais condições, estufa e geladeira, provocaram sua diminuição de forma equivalente ($p > 0,05$).

No 7º dia de análise, devido a problemas de aferição no aparelho, não foi possível a realização do ensaio em triplicata. Dessa forma, os dados desse período do estudo foram descartados.

5.2.3 Avaliação microscópica

A análise microscópica do tamanho de gotículas é um teste de triagem muito importante no desenvolvimento de sistemas emulsionados, pois permite analisar tamanho, formato e distribuição das gotículas dispersas, que são fatores que influenciam fortemente na sua estabilidade (SIQUEIRA, 2016).

Segundo Estanqueiro et al., (2014), o tamanho de gotícula de uma emulsão está relacionado diretamente com a qualidade do emulsificante, pois quando a emulsão apresenta gotículas pequenas, este é de qualidade e o sistema é estável.

Apesar das amostras apresentarem uniformidade no tamanho e distribuição de gotículas, pequenos pontos de agregação e coalescência foram observados (figura 9). A presença de cristais aciculares de cafeína foi observada na emulsão contendo esse insumo, incorporado à base emulsionada após solubilização. Sendo assim, sugere-se que após o resfriamento da formulação a cafeína cristalizou novamente, devido sua baixa solubilidade na fase externa aquosa.

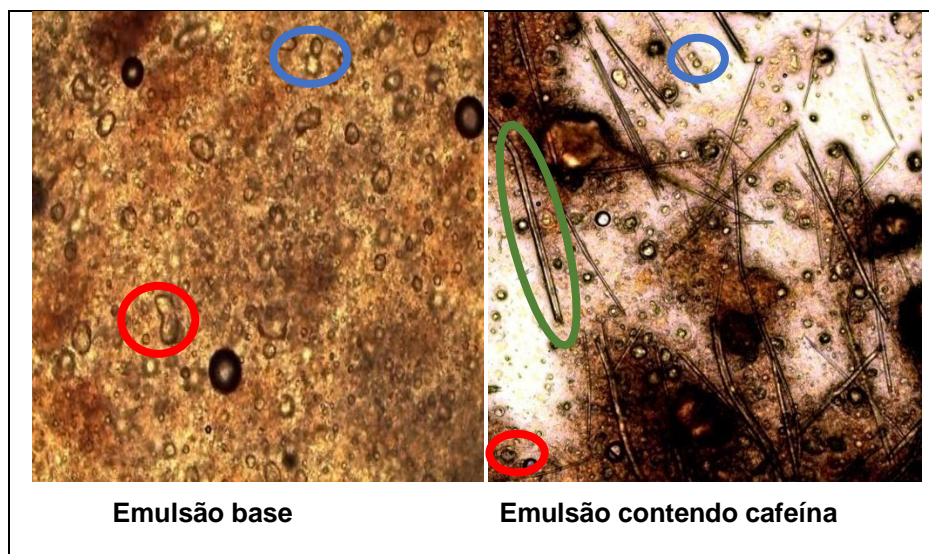


Figura 9. Fotomicrografia em microscópio óptico da emulsão base e com cafeína incorporada, recém elaboradas. O agregação, O coalescência e O cristais de cafeína. **Fonte:** Própria autora, 2018.

5.2.4 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica é um parâmetro muito importante na análise da estabilidade das emulsões, pois alterações nos valores da condutividade nos sistemas dispersos indicam algum tipo de instabilidade física como, por exemplo, a agregação, a coalescência e a separação de fases (BRASIL, 2004). Este parâmetro ainda pode ser utilizado para determinar o tipo de emulsão, pois é dependente da fase contínua ou externa. Sendo elevada em emulsões do tipo O/A e reduzida em emulsões A/O. Possibilitando, assim, o monitoramento da integridade da fase contínua durante longos períodos de armazenamento (MORAIS, 2006; CALLEGARI, 2015).

Tabela 3. Resultados das determinações da condutividade elétrica (mS/cm) da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade em distintas condições climáticas.

Tempo (dias)	Condutividade (mS/cm) nas distintas condições climáticas		
	Estufa	Geladeira	Ambiente
	40 ± 2°C	5 ± 2°C	20 ± 5°C
1	34,33 ± 1,1060	34,33 ± 1,1060	34,33 ± 1,1060
7	73,03 ± 1,7616	93,96 ± 3,5641	88,3 ± 4,1580
15	56,83 ± 3,6718	85,5 ± 2,0171	68,8 ± 3,4068

Nota: Os resultados foram expressos como média das três medições ± desvio padrão.

Fonte: Própria autora, 2018.

Os resultados apresentados na Tabela 3 evidenciam alterações da condutividade da fase externa da emulsão nas três condições climáticas avaliadas. Todas as condições proporcionaram aumento da condutividade no 15º dia em relação ao primeiro dia de análise. Sendo mais elevada a alteração na amostra de emulsão submetida ao resfriamento. O aumento da condutividade pode estar relacionado com o aumento da coalescência das gotículas da fase interna (BRASIL, 2004).

Os valores da condutividade elétrica apresentaram variação estatística significativa entre 1º e 7º dia e entre o 1º e 15º para as amostras armazenadas em geladeira e temperatura ambiente, sendo que nessas mesmas condições de armazenamento a variação não foi significativa entre o 7º e o 15º dia. Já para as amostras armazenadas em estufa a condutividade apresentou variações significativas ($p < 0,0001$) em todos os dias de análise. Entre as distintas condições de estocagem também houve diferenças significativas, exceto entre geladeira e temperatura ambiente ($p=0,28$).

5.2.5 Determinação da densidade

Um dos principais fatores que levam a alteração da densidade de uma emulsão é a incorporação de ar durante seu processo produtivo ou perda de massa durante seu armazenamento. As alterações na densidade, em geral, estão relacionadas às mudanças de características organolépticas (cor e odor), como também à desestabilização do sistema (COELHO, 2014).

No presente estudo, a amostra de emulsão armazenada em geladeira apresentou menor alteração em relação às amostras armazenadas nas demais condições testadas no estudo de estabilidade preliminar, conforme ilustrado na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados das determinações da densidade (mg/mL) da emulsão contendo cafeína submetida ao estudo de estabilidade em distintas condições climáticas.

Tempo (dias)	DENSIDADE (mg/cm ³)		
	Estufa 40 ± 2°C	Geladeira 5 ± 2°C	Ambiente 20 ± 5°C
1	0,95 ± 0,0002	0,95 ± 0,0002	0,95 ± 0,0002
7	0,91 ± 0	0,92 ± 0,0001	0,82 ± 0,0001
15	0,88 ± 0,0003	0,93 ± 0	0,89 ± 0,0001

Nota: Os resultados foram expressos como média das três medições ± desvio padrão.

Fonte: Própria autora, 2018.

Todas as condições proporcionaram decréscimo da densidade no 15º dia em relação ao primeiro dia de análise. A análise estatística deste parâmetro mostrou uma variação significativa durante todo o período do estudo de estabilidade preliminar, e entre as distintas condições de estocagem.

Em seu estudo de estabilidade Cefali *et al.*, (2015) não observou alterações desse parâmetro na emulsão O/A submetida às distintas condições de estocagem. Esses resultados diferem do presente estudo, descartando, assim, as condições climáticas como causadoras das alterações de densidade. É provável que no presente estudo tenha ocorrido perda de água durante o período de estocagem, reduzindo a massa e conseqüentemente sua densidade. Nesse caso, alterações no envase poderiam solucionar o problema.

Outro fator que poderia estar relacionado às alterações de densidade seria a falta de homogeneidade do sistema emulsionado. Para essa hipótese, alterações na produção seriam necessárias.

5.2.6 Espalhabilidade

A análise da espalhabilidade é um parâmetro que tem por objetivo mostrar o quanto que uma formulação cosmética se espalha quando exposta a uma força mecânica necessária para sua aplicação na pele. É importante avaliar este

parâmetro, pois através dele é possível dizer se a formulação é fácil de ser aplicada sobre a pele (RODRIGUES, 2013).

Os resultados da espalhabilidade da emulsão contendo cafeína estão representados no gráfico 1. Através desta análise, observou-se um aumento gradual da área de espalhabilidade com as sucessivas adições de massa (placas de vidro) adicionadas sobre uma alíquota da amostra. Foram observados distintos comportamentos de espalhabilidade em relação às diferentes condições de armazenamento.

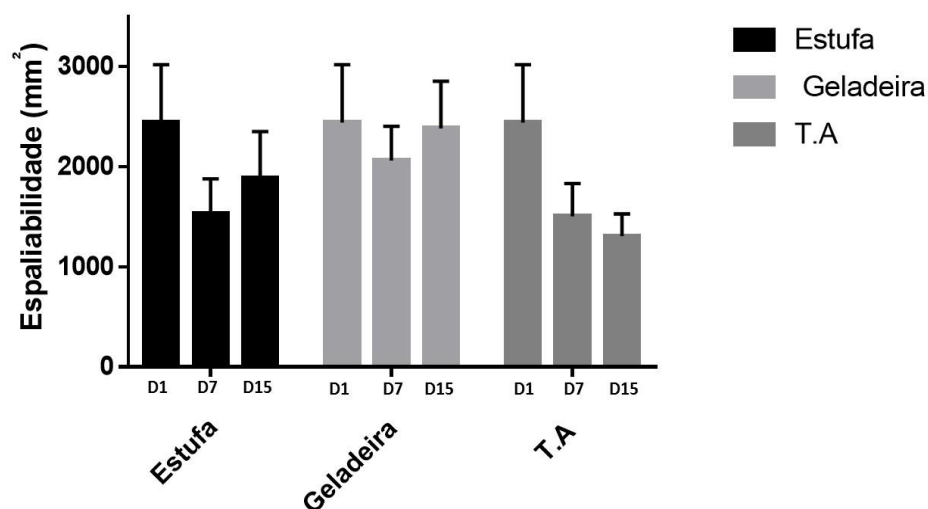


Gráfico 1. Espalhabilidade da emulsão O/A contendo cafeína para as diferentes condições de temperaturas, durante estudo de estabilidade preliminar.
Fonte: Própria autora, 2018.

Apesar das amostras submetidas a esta análise terem apresentado variações nos valores de espalhabilidade, verificou-se estatisticamente que as amostras armazenadas em estufa e geladeira não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si, para cada dia de análise. Entretanto, a emulsão armazenada na geladeira apresentou menores alterações da espalhabilidade ao longo do tempo de armazenamento, com valores de 1.000 a 3.000 mm².

Diferentemente das amostras armazenadas a temperatura ambiente, que apresentaram variações significativas entre os três períodos de análise, e entre as diferentes condições de estocagem. Observou-se um decréscimo da espalhabilidade da amostra exposta a esta condição. Entretanto, a redução seguiu de forma gradativa até o último dia de estocagem. Os resultados desta análise diferem dos

estudos realizados por Friedrich et al., (2007), que observou que os valores de espalhabilidade da emulsão submetida às diferentes condições de estocagem foram semelhantes durante todo o período de estudo.

5.2.7 Determinação do teor da cafeína

Diversos fatores podem levar à diminuição da concentração de uma substância ativa durante o período de estocagem de uma formulação, como: elevadas temperaturas, presença de umidade e condições variadas pH (MEIRELLES, 2014).

O teor da cafeína, determinado a cada período de análise está descrito na Tabela 7.

Tabela 5. Teor da cafeína (% p/p) na emulsão durante o estudo de estabilidade preliminar em três condições de estocagem.

Tempo (dias)	TEOR DE CAFEÍNA (%)		
	Estufa	Geladeira	Ambiente
	40 ± 2°C	5 ± 2°C	20 ± 5°C
1	99,90	99,90	99,90
7	167,72	96,91	94,37
15	105,22	108, 25	93,98

Fonte: Própria autora, 2018.

Após 1 dia de estocagem nas distintas condições climáticas empregadas no estudo de estabilidade preliminar, o teor da cafeína na emulsão estava em torno de 99%.

No 7º dia de estocagem, as amostras acondicionadas em geladeira (5 ± 2°C) e à temperatura ambiente (20 ± 5°C) apresentaram decaimento de teor do ativo: 96,91 e 94,37%, respectivamente. Enquanto que a emulsão acondicionada em estufa (40 ± 2°C) apresentou um exorbitante acréscimo (167,72%). Essas variações podem ser justificadas pela falta de homogeneidade do ativo na base emulsionada (*cf.* figura 9) e sua solubilidade reduzida na fase externa. Sendo assim, em condições de temperaturas inferiores à temperatura ambiente, ocorre maior precipitação desse ativo na fase externa, alterando ainda mais a homogeneidade da emulsão. Com o aumento da temperatura ao submeter a emulsão à 40 ± 2°C, a cafeína pode estar sendo solubilizada na fase externa. Entretanto, não ocorre homogeneização do

sistema emulsionado, devido a sua consistência. Possibilitando, assim, a determinação de valores tão destoantes do valor inicial.

5.3 Permeação cutânea *in vitro* da cafeína a partir da emulsão desenvolvida

Estudos de permeação *in vitro* são realizados com o intuito de analisar se o fármaco foi capaz de penetrar nas camadas da pele e atravessar o estrato córneo. O processo de difusão passiva é descrito como o transporte do fármaco através da pele, assim o fármaco é induzido a atravessar suas camadas, uma vez que esta não participa ativamente do processo, logo isto é permitido pelo gradiente de concentração, a partir do lado de maior concentração (MATOS, 2014).

Tabela 6. Concentração de cafeína ($\mu\text{g/mL}$) permeada na pele de orelha de porco após 6 horas.

REPLICATA	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g/mL}$)	MÉDIA (\pm DP)	CV (%)
1	23,35	25,05 \pm 3,44	13,7
2	22,88		
3	31,21		
4	21,53		
5	26,30		

Fonte: Própria autora, 2018.

No ensaio de permeação *in vitro* a média de concentração da cafeína permeada foi $25 \pm 3,44 \mu\text{g/mL}$, como mostra a Tabela 8. A reduzida permeação desse ativo era esperada, pois estudos relatam que as características físico-químicas da cafeína dificultam a sua penetração na barreira cutânea da pele. Freire (2017) no desenvolvimento de suas formulações contendo 1% de cafeína realizou estudos de permeação e obteve resultados semelhantes, o autor concluiu que a cafeína veiculada em sistemas emulsionados não é relevante para permeação cutânea.

Tassinary et al., (2015) avaliou a permeação de uma formulação contendo 5% de cafeína com e sem a aplicação de um ultrassom terapêutico, e verificou-se que o uso da sonoforese proporciona a permeação de concentração de cafeína 5 vezes mais. O autor concluiu que os resultados encontrados comprovaram o que é mostrado em outros estudos, a dificuldade que a cafeína tem de penetrar as barreiras biológicas da pele.

LONGO (2006) avaliou a permeação cutânea *in vivo* de formulações contendo 1,5% de cafeína em suínos e obteve resultados satisfatórios, pois os estudos

mostraram que a cafeína incorporada penetrou na pele e promoveu o efeito terapêutico desejado, mesmo a incorporação desse ativo não sendo alta nas formulações desenvolvidas.

A reduzida permeação da cafeína impede seus efeitos sistêmicos, mas permite sua utilização por via tópica para o tratamento da LDG. Demonstrando, que o ativo ultrapassa a principal barreira da pele, o estrato córneo.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu a elaboração de uma emulsão semissólida destinada ao tratamento por massagem da lipodistrofia ginóide (LDG). Os ensaios de permeação *in vitro* evidenciaram a capacidade do sistema emulsionado em veicular a cafeína através do estrato córneo, em quantidades insuficientes para provocar um efeito sistêmico desse ativo. Possibilitando, assim, sua aplicação tópica para tratar LDG.

Entretanto, os ensaios de caracterização físico-químico realizados, tanto com a emulsão base, quanto com a emulsão contendo cafeína, assim como os realizados no estudo de estabilidade preliminar dessa última, ressaltam a necessidade de melhora da estabilidade física dos produtos finais.

A emulsão base foi selecionada entre 18 fórmulas, por apresentar características estéticas agradáveis (aspecto macroscópico), para a elaboração de emulsão contendo cafeína. Entretanto, sua análise microscópica evidenciou fenômenos de instabilidade, agregação e coalescência.

A incorporação do ativo, durante o processo produtivo, por solubilização realizada com aquecimento, permitiu que a cafeína retornasse ao seu estado cristalino ao arrefecer, devido a sua baixa solubilidade na fase externa. Ficando, assim, mal distribuída no sistema emulsionado e permitindo alterações importantes no teor ao longo do armazenamento em distintas condições de estocagem. Dessa forma, sua incorporação poderia ser realizada com solubilização prévia, à temperatura ambiente, com pequeno volume de co-solvente ou mesmo alterando a fase de incorporação, solubilizando-a na fase orgânica da emulsão, também à temperatura ambiente antes do aquecimento e junção das fases.

A falta de homogeneidade do ativo no sistema emulsionado também pode ser a causa das alterações de pH observadas no estudo de estabilidade preliminar. A calibração errônea ou defeitos do equipamento pHmetro, também podem justificar essas alterações. Entretanto, ainda que divergentes do valor de pH ajustado no dia de preparo (pH 5,0), os valores observados na emulsão contendo cafeína submetida às distintas condições de armazenamento são aceitáveis para o uso tópico (pH entre 5,6 e 7,3).

As alterações de condutividade, são explicadas pela instabilidade física da fase externa. A baixa condutividade inicial da emulsão com cafeína ocorre pelos

fenômenos de agregação, também observados na emulsão base. Enquanto que o aumento de condutividade da emulsão contendo cafeína é causado pela coalescência da fase interna ao longo do estudo de estabilidade. O aumento da viscosidade, com adição de insumo espessante, poderia solucionar esse problema, mas dificultaria a aplicação desse produto por massagem. Sendo assim, alterações na velocidade de agitação, durante processo produtivo, parece ser uma alternativa à redução dos fenômenos de agregação e coalescência, por possibilitar maior redução do tamanho das gotas da fase interna e, assim, aumentar a estabilidade física do produto.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, J. P. J. M.; TUCUNDUVA, T. C. M.; PINHEIRO, V. B.; BAGANTIN, E. **Celulite: artigo de revisão**. Surgical Cosmetic Dermatology, v. 2, n. 3, p. 214-19 2010.
- ALLEN J. R, L. V.; POPOVICH N. G.; ANSEL H. C. Formas Farmacêuticas e sistemas de liberação de Fármacos. 8° ed. Artmed: Porto Alegre, 2007.
- ALMEIDA, T. P.; KILIAN, T.; MOREIRA, J. A. R. **Comparação entre a endermoterapia e o ultrassom no tratamento do fibro edema geloide**. Revista Científica da FHO|UNIARARAS, v. 3, n. 1, 2015.
- BOLZINGER, M. A.; BRIANÇON, S.; PELLETIER, J.; CHEVALIER, Y. **Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane**. Current Opinion in Colloid & Interface Science, v. 17, p. 156-165, 2012.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Farmacopéia Brasileira**. Brasília, v. 1, p. 546, 2010.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Parecer técnico nº 1, de 29 de junho de 2002. Utilização de metilxantinas em preparações cosméticas. Disponível em: < <[http:// goo.gl/9xM0n](http://goo.gl/9xM0n)> Acesso em: 30 jun. 2018.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Controle de qualidade de produtos cosméticos**/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1° edição, revista-Brasília: Anvisa, 2004. 17p.
- CALLEGARI, F. C. **Desenvolvimento e avaliação físico-química e microbiológica de cosméticos para a pele humana contendo óleos de macaúba (acrocomia aculeata (jacq.) lodd. ex mart)**. 2015. 123 p. Tese de mestrado. Programa de pós-graduação em engenharia química, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015.
- CASTRO, R. M. L. **Emulsão: uma revisão bibliográfica**. 2014. 59 f. Monografia (Graduação) – Curso de Farmácia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 02 dez. 2014.
- CEFALI, L. C. **Desenvolvimento e atividade do fitocosmético contendo licopeno para o combate à aceleração do envelhecimento cutâneo**. 2009. 136p. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas Araraquara, UNESP, 2009.
- CEFALI, L. C.; MOREIRA, T. M. S.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N.; ISAAC, V. L. B. **Development and evaluation of an emulsion containing lycopene for combating acceleration of skin aging**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 51, n. 3, p. 579-590, 2015.
- COSTA, M. F.; ALVES, J. S. **Planejamento de Formulação e Obtenção de Cosmético (Máscara Plástica) para Aplicação Pós-Microdermoabrasão**. 2009.

COSTA, V. A.; RAFAEL, E. S.; CAMPOS, A. T. O.; COELHO, M. T. B.; PESSOA, C. V. **Fitocosméticos a base de centella asiática para o tratamento da celulite.** Mostra Científica da Farmácia, 10.2016, Quixadá. Anais... Quixadá: Centro Universitário Católica de Quixadá, 2016.

COELHO, L. G. **Desenvolvimento e estudo da estabilidade de emulsões com propriedades repelentes naturais.** 2014.48 p. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Rio Grande do Sul, 2014.

DAHER, C. C. et al. **Development of O/W emulsions containing euterpe oleracea extract and evaluation of photoprotective efficacy.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 50, n. 3, p. 639–652, 2014.

DESCHAMPS, C.; MONTEIRO, R.; MACHADO, M. P.; SCHEER, A. P.; COCCO, L.; YAMAMOTO, C. **Avaliação de genótipos da Mentha arvensis x piperita e Mentha spp. para produção de mentol.** Horticultura Brasileira, v. 31. n. 2, junho 2013.

ESTANQUEIRO, M.; CONCEIÇÃO, J.; AMARAL, M. H.; SANTOS, D.; SILVA, J. B.; LOBO, J. M. S. **Characterization and stability studies of emulsion systems containing pumice.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 50, n.2, 2014.

FERNANDES, A. R.; DARIO, M. F. PINTO, C. A. S. O., KANEKO, T. M., BABY, A. R., VELASCO, A. V. R. **Stability evaluation of organic lip balm.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 49, n.2, 2013.

FRANÇA, I. C.; AKATSUKA, E. W.; LEAL, C. P.; FIGUEIREDO, M. R.; OLIVEIRA, L. A.; ANDRADE, N. S. **Eficácia da técnica de massagem modeladora para redução de adiposidades e do fibro edema gelóide.** Atas de Ciências da Saúde, São Paulo, V.4, n.2, p. 23-30, abr-jun 2016.

FREIRE, T. B. **Desenvolvimento e avaliação da segurança e eficácia de nanoemulsão com cafeína com ação na HDLG.** 2017. 122 p. Tese de mestrado. Programa de pós-graduação em fármacos e medicamentos, Faculdade de ciências farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2017.

FRIEDRICH, M., PRIMO, F. T.; FUNCK, J. A. B.; LAPORTA, L. V.; ALVES, M. P.; BITTENCOURT, C. F.; ESCARRONE, A. L. V. **Avaliação da estabilidade físico-química de creme não iônico inscrito no Formulário Nacional.** Latin American Journal of Pharmacy, v. 26, n. 4, p. 558, 2007.

GARDEN QUÍMICA (Garden Quimica Indústria E Comercio Ltda) Guarulhos, São Paulo, 2014. Disponível em: <http://gardenquimica.com.br/fispq/mentol-cristal.pdf>>. Acesso em: 08 de out.2017.

GARLET, T. M. B. **Produtividade, teor e composição do óleo essencial de espécies de Mentha L. (lamiaceae) cultivadas em hidroponia com variação de potássio.** 2007. 131 p. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul. 2007.

ISAAC, *et al.* **Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. v. 29, n. 1, p. 81-96, 2008.

KRUPEK, T. **Mecanismo de ação de compostos utilizados na cosmética para o tratamento da gordura localizada e da celulite.** Revista Saúde e Pesquisa, v. 5, n. 3, p. 555-566, set./dez. 2012.

LANGE, M. K.; HERBELE, G.; MILÃO, D. **Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 45, n. 1, 2009.

LEONARDI, G. R.; CHORILLI, M. **Celulite, prevenção e tratamento.** São Paulo: Pharmabooks, 2010.

LONGO, D. P. **Obtenção, caracterização e estudo de liberação in vitro e permeação in vivo de sistemas microestruturados contendo cafeína.** 2006. 140 p. Dissertação (mestrado). Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP. 2006.

LORENZI, H.; ABREU MATOS, F. J. **Plantas Medicinais no Brasil Nativas e Exóticas.** Instituto Plantarum, 2ª Edição, Nova Odessa – SP - Brasil, 2008.

LIMA, C.C.; SANTOS, M. L. W.; ALVES, P. P. L.; MACHADO, A. R. S. R.; MARSON, R. F. **Métodos diagnósticos e tratamentos do fibroedema gelóide: uma revisão bibliográfica.** Revista Conexão Eletrônica – Três Lagoas, MS, v.13, n.1, 2016.

LIMA, C. G.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S.; PIANNOVSKI, A. R.; KETLYN K. SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; CARLO R. DE MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleifera*).** Revista Brasileira de Farmácia, v. 89, p. 239-245, 2008.

LYRIO, ES, *et al.* **Recursos vegetais em biocosméticos: conceito inovador de beleza, saúde e sustentabilidade.** Natureza online, v. 9, n. 1, p. 47-51, 2011.

MARIEB, E. N.; HOEHN, K. **Anatomia e fisiologia.** Artmed Editora, 2009.p.139.

MARTÍNÉZ, C. A. G. **PRINCIPAIS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE ACESSOS DE *Mentha spp* EM BRASÍLIA E ESTUDO DA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA.** 2016. 78 p. Tese de mestrado. Programa de pós-graduação em agronomia, Universidade de Brasília, Brasília. 2016.

MAGALHÃES, B. H.; CAMARGO, M. F.; HIGUCHI, C. T. **Indicação do uso de espécies vegetais para o tratamento da celulite com fins cosméticos.** Revista de Saúde, Meio ambiente e Sustentabilidade, v. 8, n. 3, p. 61-82, 2013.

MATOS, B. N. **Desenvolvimento de uma formulação tópica contendo nanopartículas de quitosana como estratégia para aumentar a penetração folicular do minoxidil sulfato no tratamento da alopecia androgênica.** 2014. 69

p. Dissertação (mestrado). Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, Brasília. 2014.

MEIRELLES, L. M. A. **Estabilidade de medicamentos: estado da arte**. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 11, n. 4, p. 06-26, 2014.

MELO, J. G.; MARTINS, J. D. G. R.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. **Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiática* (L.) Urban)**. Acta botonica brasílica, v.21, n.1, p. 27-36, 2007.

MENDONÇA, R. S. C.; RODRIGUES, G. B. O. **As principais alterações dermatológicas em obesos**. ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva, v. 24(1), p. 68-73, 2011.

MORAES, G. G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidos de xantina para o tratamento da hidrolipodistrofia ginóide (celulite)**. 2006.181 p. Tese (Mestrado em ciências farmacêuticas) – Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.

MORAES, I. P., CANUTO, R. F. C. **A importância da estabilidade em produtos cosméticos**. 2011. 53 p. Monografia (Graduação) – Curso de Farmácia, Universidade Estadual de Goiás, Goiás 2011.

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.

PIRES-E-CAMPOS, M. S. M. et al. **The effect of topical caffeine on the morphology of swine hypodermis as measured by ultrasound**. Journal of Cosmetic Dermatology, v. 7, n. 3, p. 232–237, 2008.

REIS, E. F. **Plantas medicinais: um estudo da sua utilização popular no município de Rubim (MG)**. AMBIÊNCIA, v. 9, n. 3, p. 627-640, 2013.

ROCHA, N. S. **Análise de qualidade microbiológica e físico-química de cremes hidratantes capilares comerciais em uso**. 2016. 45p. Monografia (Graduação) – Curso de Farmácia, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

RODRIGUES, L. M. **Desenvolvimento e estudo de estabilidade preliminar de emulsões óleo/água a base de óleos vegetais para prevenção e/ou adjuvante no tratamento de úlceras por pressão**. 2013. 45p. Monografia (Graduação) – Curso de Farmácia, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SANTOS, D. B. F. **A influência da massagem modeladora no tratamento do fibro edema gelóide**. Pós-graduação em Fisioterapia Dermato Funcional – Faculdade Ávila, 2012.

SASIL (Sasil Comercial e Industrial de Petroquímicos Ltda) Pirajá, Salvador-Bahia, 2009. Disponível em: <<http://www.sasil.com.br/br/hp/upload/FISPQ-CafeinaAnidra.pdf>>. Acesso em: 03 de out. 2017.

SILVA, J. A.; SANTANA, D. P.; BEDOR, D. G. C.; BORBA, V. F. C.; LIRA, A. A. M; EGITO, E. S. T. **Estudo de liberação e permeação *in vitro* do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like.** *Quimica Nova*, Vol. 32, N. 6, 1389-1393, 2009.

SILVA, E. C., PAOLA, M. V. R. V., MATOS, J. R. **Análise térmica aplicada à cosmetologia.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n.3, p. 347-56, 2007.

SILVA, S. A. M., VALARINI, M. F. C., CHORILI, M., VENTURINI, A., LEONARDI, R. G. **Atividade antioxidante do extrato seco de cacau orgânico (*theobroma cacao*)- estudo de estabilidade e teste de aceitação de cremes acrescidos deste extrato.** *Revista ciências farmacêuticas básica aplicada*, v. 32, n. 4, p. 493-501, 2013.

SILVA, K. A.; POZZA, B. M. F.; RIBEIRO, B. D.; COELHO, M. A. Z. **Avaliação da estabilidade de emulsões cosméticas elaboradas com saponinas de juá (*ziziphusjoazeiro*) e sisal (*agave sisalana*).** *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.17, n.3, Jul. - Set./2016.

SILVA, R. M. **Uma análise da endermoterapia vibratória associado á fonoforese, aplicado em região posterior de coxa no Fibro Edema Gelóide grau III.** (Graduação) – Curso de Fisioterapia, Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, 2011.

SIQUEIRA, J. C. 2016. 27 p. **Avaliação da estabilidade de uma emulsão cosmética cold cream contendo diferentes tipos de ceras.** (Graduação) – Curso de Química Industrial, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2016.

SILVA, L. M. **Encapsulação da vitamina c em lipossomas para o tratamento do envelhecimento cutâneo: desenvolvimento tecnológico, analítico e avaliação da performance biológica *in vitro* em modelos de permeação cutânea e em linhagens celulares de queratinócitos e fibroblastos.** 2016. 102 P. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Goiânia, Goiânia. 2016.

SOUZA, J. et al. **O uso de micro-ondas no preparo de emulsão e influência na estabilidade.** *Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada*, v. 34, n. 3, p. 387–394, 2013.

TAVARES, C.; SAKATA, R. K. **Cafeína para o tratamento de dor.** *Revista Brasileira de Anestesiologia*, v. 62, n.3, Maio-Junho, 2012.

TERRA, R. S.; MININ, M. M.; CHORILLI, M. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulação anticelulítica acrescida de**

lipossomas contendo sinefrina e cafeína. Revista Brasileira de Farmácia, v. 90, n.4, p. 303-308, 2009.

TASSINARY, J. A. F.; BRESCIANI, L.; BIANCHETTI, P.; REMPEL, C.; SCHMITT, B.; STULP, S. **Avaliação da permeação e da retenção da cafeína associadas ao ultrassom terapêutico.** Revista Destaques Acadêmicos, v. 7, n. 3, 2015.

TOPAN, J. F. **Emulsões à base de óleo de girassol (*Helianthus annus L.*) com cristal líquido: avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética.** Ribeirão Preto, 2012.

VALDEQUIMICA (Valdequimica produtos químicos Ltda) Caxingui, São Paulo, 2015. Disponível em: <http://www.valdequimica.com.br/wp-content/uploads/2016/06/EXTRATO-GLIC-DE-CENTELLA-FP.pdf>. Acesso em: 08 de out.2017.

VALDEQUIMICA (Valdequimica produtos químicos Ltda) Caxingui, São Paulo, 2015. Disponível em: <http://www.valdequimica.com.br/wp-content/uploads/2015/07/EXTRATO-SECO-DE-CASTANHA-DA-INDIA-FE.pdf>. Acesso em: 17 de out.2017.

VIDAL, B. A. S.; MOREIRA, T. R. **Eficácia de nutrientes na prevenção e tratamento da lipodistrofia ginóide.** Revista Brasileira de Nutrição Clínica, v. 31, n. 1, p. 80-85, 2015.

ZANON, A. B. **Aspecto Teórico e prático sobre a avaliação da estabilidade de emulsão manipulada em farmácia.** 2010. 52 p. Monografia (Graduação) – Curso de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do sul, Porto Alegre, 2010.