



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – PPgCF

RAYLLAN DE OLIVEIRA RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO DE EMULSÕES CONTENDO EXTRATO DE *Kalanchoe  
brasiliensis* Cambess E AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFICÁCIA HIDRATANTE**

Natal, RN

2016

RAYLLAN DE OLIVEIRA RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO DE EMULSÕES CONTENDO EXTRATO DE *Kalanchoe  
brasiliensis* Cambess E AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFICÁCIA HIDRATANTE**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Ferrari

Natal, RN

2016

Catálogo da Publicação na Fonte  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Sistema de Bibliotecas - SISBI

Rodrigues, Rayllan de Oliveira.

Desenvolvimento de emulsões contendo extrato de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess e avaliação clínica da eficácia hidratante / Rayllan de Oliveira Rodrigues. - Natal, 2016.  
88f: il.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Ferrari.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

1. Crassulaceae - *Kalanchoe* - Dissertação. 2. Plantas medicinais - Cosméticos - Dissertação. 3. Estabilidade - Dissertação. I. Ferrari, Márcio. II. Título.

RN/UF/BS-CCS

CDU 582.711.16

RAYLLAN DE OLIVEIRA RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO DE EMULSÕES CONTENDO EXTRATO DE *Kalanchoe  
brasiliensis* Cambess E AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFICÁCIA HIDRATANTE.**

**Banca Examinadora:**



Prof. Dr. Marcio Ferrari  
Presidente – UFRN



Prof. Dr. Pedro Alves da Rocha Filho  
Examinador Externo – FCFRP-USP



Profa. Dra. Ana Paula Barreto Gomes  
Examinador Interno – UFRN

Natal, 26 de Janeiro de 2016.

NATAL / RN

2016

*A meus pais, Raimundo e Edna, por toda força, incentivo e esforço, amor e ternura,  
que mesmo com os contratempos souberam me ensinar a superar dificuldades e  
buscar vencer e acreditar em Deus.*

*A Júlia, a melhor pessoa que já conheci na vida, por todo apoio, ensino e paciência  
em ajudar. Minha melhor amiga acima de tudo. Te amo!*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, meu papai do céu de todas as horas, por me dar paciência e fazer buscar sempre as melhores decisões. Agradeço em especial por esse ano de provas, no qual mostrastes que sempre estavas comigo. Se tivesse apenas alguns instantes de vida, gostaria de dedicá-los somente a agradecê-lo por tudo! Agradeço também a São Francisco de Assis, um discípulo de Deus do qual sou devoto.

Ao meu pai, Raimundo, meu espelho de pessoa, trabalho, moral e cuidado com a família, sabes que esse é um sonho que compactuo com você. À minha mãe, Edna, exemplo de trabalho, dedicação, simpatia e conselheira. Agradeço imensamente por Deus tê-los dados como meus pais.

Aos meus irmãos, Railane, Raildo, Raimundo Filho e Raynara, por me trazerem momentos de alegria e descontração quando eu mais precisava. Beijo em cada um de vocês.

A Júlia Moraes, minha companheira, amiga, conselheira. Obrigado por ter sido tão paciente, e mostrar que sou capaz. Sem você, talvez não estivesse nem terminado esse trabalho.

Ao prof. Márcio Ferrari, meu orientador, por acreditar em mim desde o início, e pelo apoio incondicional. Agradeço pelos ensinamentos, atenção, profissionalismo, paciência e compreensão nas horas que precisei. Agradeço por tudo que aprendi, e posso dizer que se hoje cresço profissionalmente, é muito espelho do que vi em você, grande Mestre!

À profa. Silvana Zucolotto, por aceitar participar de nosso trabalho e pelo apoio, e por “abrir as portas” do Laboratório de Farmacognosia para o que precisássemos.

Ao prof. Luis Alberto Lira Soares, pela participação e contribuições ao nosso trabalho.

À profa. Elissa Ostrosky, por me acolher imensamente bem na disciplina de Estágio à docência, e pelo apoio e ensinamentos transmitidos. Obrigado!

Aos professores Adley Antonini Lima, Elissa Arantes Ostrosky e Fernando Henrique Nogueira, pelas importantes sugestões durante a banca de Qualificação de Mestrado.

Ao prof. Hugo Alexandre de Oliveira Rocha, pela parceria junto ao Laboratório de Biotecnologia de Polímeros Naturais (BIOPOL), acrescentando bastante informação ao nosso trabalho.

A mestra Marília Medeiros Fernandes de Negreiros, por nos auxiliar na pesquisa sobre a caracterização química do extrato junto ao BIOPOL.

A toda equipe do Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos Cosméticos, em especial, a Gabriel Damasceno, Renato Ribeiro, Stella Barreto e Emanuele Patrícia, pela ajuda desde o início, e ideias que foram bastante proveitosas, e pelos momentos de descontração.

A todos os 18 voluntários que se dispuseram a participar dos testes clínicos. Obrigado por acreditar no compromisso e seriedade deste trabalho!

Ao Laboratório Escola de Farmácia Industrial (LEFI), nas pessoas do Técnico Edinaldo, e do prof. Túlio Flávio Accioly.

A todos meus amigos, pelas palavras de apoio, incentivo e força, e pelos momentos de descontração, em especial a Elyson Salustino e Gustavo Brandão.

Ao meu amigo Paulo Adalgísio da Silva (*in memoriam*) por sempre me incentivar e dar palavras de apoio, e do quanto ficaria feliz por este momento.

E a todos que tenha esquecido, que de alguma forma contribuíram com uma parcela especial para a realização deste trabalho.

***A quem Deus promete, não falta!***

***(Provérbio popular)***



## RESUMO

A espécie *Kalanchoe brasiliensis* Cambess, pertencente à família Crassulaceae, apresenta em sua composição química flavonoides, polissacarídeos e ácido ascórbico. Esses ativos são comumente utilizados em formulações cosméticas com propriedades antioxidantes, hidratantes e antienvhecimento. Essa pesquisa teve como objetivos o desenvolvimento de emulsões hidratantes aditivadas com o extrato hidroetanólico de folhas de *Kalanchoe brasiliensis* e avaliar a eficácia clínica hidratante das mesmas. O extrato obtido foi avaliado quanto às concentrações de açúcares totais, proteínas e polifenóis totais. Foram desenvolvidas formulações com diferentes concentrações de *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside* (Novemer™ EC-2), adicionadas ao gel de *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* (Carbopol® Ultrez-20). As formulações foram aditivadas ou não de 0,5% (p/p) do extrato vegetal em estudo e submetidas aos testes de estabilidade preliminar e acelerada. No estudo de estabilidade acelerada, as amostras foram estocadas em diferentes temperaturas durante 90 dias. As características organolépticas, valor de pH e comportamento reológico foram avaliados. A formulação contendo 3,0% Novemer™ EC-2 e 0,4% de Carbopol® Ultrez-20 aditivada com 0,5% de extrato hidroetanólico de *K. brasiliensis* foi considerada estável. A eficácia clínica foi avaliada por meio das metodologias de capacitância e da perda de água transepidermal. A formulação contendo o extrato comparado ao veículo promoveu aumento estatisticamente significativo do conteúdo hídrico do estrato córneo da pele e diminuição da perda de água transepidermal promovendo efeito barreira até cinco horas após uma única aplicação da formulação. A emulsão desenvolvida com 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de *K. brasiliensis*, apresentou eficácia hidratante atuando possivelmente pelos mecanismos de oclusão e umectação, demonstrando potencial uso como produto cosmético hidratante.

**Palavras-chave:** Caatinga, Cosméticos, Estabilidade, *Kalanchoe brasiliensis*.

**ABSTRACT**

*Kalanchoe brasiliensis* Cambess specie, belonging to the Crassulaceae family, presents flavonoids, polysaccharides and ascorbic acid in its chemical composition. These compounds are generally used in cosmetics formulations as antioxidants, moisturizers and anti-aging properties. This research aimed to development moisturizing emulsions add or not with hydroethanolic extract of the *Kalanchoe brasiliensis* leaves and evaluated its moisturizing clinical efficacy. Formulations have been developed with different concentrations of *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside* (Novemer™EC-2 polymer), incorporated to *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* (Carbopol® Ultrez-20). The formulations were added or not with plant extract 0.5% (w/w) and subjected to accelerated stability tests. In accelerated stability study, the samples were stored at different temperatures for 90 days. The organoleptic characteristics, pH and rheological behavior were evaluated. The formulation containing 3.0% Novemer™EC-2 and 0.4% Carbopol® Ultrez-20 added with hydroethanolic extract of *K. brasiliensis* 0.5% was considered stable. Moisturizing clinical efficacy was evaluated by capacitance and transepidermal water loss methodologies. The formulation containing extract compared to vehicle promoted increase significantly statistical of the water content of the stratum corneum and decrease of transepidermal water loss, promoting barrier effect until five hours after single application of the formulation. The emulsion developed with 0.5% of hydroethanolic extract of *K. brasiliensis* leaves presented moisturizing efficacy acting possibly by occlusion and humectation mechanisms, demonstrating potential use as a moisturizing cosmetic product.

**Kew words:** Caatinga, Cosmetics, Stability, *Kalanchoe brasiliensis*.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Aspectos da planta e das folhas de <i>Kalanchoe brasiliensis</i> e da <i>Kalanchoe pinnata</i> .	<b>26</b>
<b>Figura 2</b>	Áreas demarcadas nos antebraços para as aplicações das amostras e controle negativo.	<b>38</b>
<b>Figura 3</b>	Aspecto da formulação contendo 3,0% de Novemer™ EC-2 e 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de <i>Kalanchoe brasiliensis</i> após 24 horas de manipulação.	<b>45</b>
<b>Figura 4</b>	Aspecto da coloração da formulação contendo 3,0% do Novemer™ EC-2 e 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de <i>Kalanchoe brasiliensis</i> após estresse térmico.	<b>48</b>
<b>Figura 5</b>	Aspecto da coloração das formulações contendo 3,0% do Novemer™ EC-2 e 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de <i>Kalanchoe brasiliensis</i> acondicionadas em frascos de polietileno.	<b>50</b>
<b>Figura 6</b>	Aspecto da coloração das formulações contendo 3,0% do Novemer™ EC-2 e 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de <i>Kalanchoe brasiliensis</i> acondicionadas em frascos de vidro.	<b>52</b>
<b>Figura 7</b>	Variações médias e erro padrão das médias dos valores de hidratação do estrato córneo após uma única aplicação da emulsão aditivada ou não de 0,5% de extrato hidroetanólico de <i>Kalanchoe brasiliensis</i> .	<b>58</b>
<b>Figura 8</b>	Variações médias e erro padrão dos valores de perda de água transepidermal (g/mm <sup>2</sup> .h) após uma única aplicação da emulsão aditivada ou não de 0,5% de extrato hidroetanólico de <i>Kalanchoe brasiliensis</i> .	<b>61</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Composição das emulsões com e sem extrato liofilizado de <i>Kalanchoe brasiliensis</i>	<b>33</b>
<b>Tabela 2</b>	Resultados das dosagens de açúcares totais, proteínas e compostos fenólicos.	<b>43</b>
<b>Tabela 3</b>	Testes de estabilidade preliminar das emulsões em estudo contendo ou não 0,5% de extrato hidroetanólico de folhas de <i>Kalanchoe brasiliensis</i>	<b>47</b>
<b>Tabela 4</b>	Testes de estabilidade acelerada das emulsões em estudo contendo ou não 0,5% de extrato hidroetanólico de folhas <i>K. brasiliensis</i>	<b>51</b>
<b>Tabela 5</b>	Variações médias e erro padrão das médias, dos valores de hidratação do estrato córneo (unidades arbitrárias) após uma única aplicação da emulsão aditivada ou não de 0,5% de extrato hidroetanólico de <i>Kalanchoe brasiliensis</i>	<b>57</b>
<b>Tabela 6</b>	Variações médias e erro padrão dos valores de perda de água transepidermal ( $\text{g}/\text{mm}^2\cdot\text{h}$ ) após uma única aplicação da emulsão aditivada ou não de 0,5% de extrato hidroetanólico de <i>Kalanchoe brasiliensis</i>	<b>60</b>

### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMP95	Aminometil propanol 95%
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Anova	Análise de Variância
AQP3	Aquaporina 3
EC	Etrato córneo
C1	Área não-tratada - controle negativo
C2	Área tratada com o veículo
C3	Área tratada com o veículo + 0,5% extrato de <i>Kalanchoe brasiliensis</i>
C4	Área tratada - controle positivo
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CEP/UNIC	Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cuiabá
CGD	Ciclo Gela-Degela
CIR	<i>Cosmetic Ingredient Review</i>
Cosing	<i>European Commission Health and Consumers – Cosmetics Ingredients &amp; Substances</i>
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EC	Etrato córneo
ET	Estresse Térmico
g/mm <sup>2</sup> .h	Unidade de medida de perda de água transepidermal
HE	Hidro Etanólico
HLB	<i>Hydrophilic Lipofilic Balance</i> (Balanço hidrófilo-lipófilo)
IFSCC	<i>International Federation of Societies of Cosmetic Chemists</i>
IM	Intensamente Modificado
Kb	<i>Kalanchoe brasiliensis</i>
INCI	<i>International Nomenclature of Cosmetic Ingredient</i>
KLK	Calicreína
M	Modificado
N	Normal ou sem alterações

NMF	<i>Natural Moisturizing Factor</i>
NV2	Formulação com 2,0% de Novemer™ EC-2
NV2.v	Veículo correspondente à formulação NV2
NV3	Formulação com 3,0% de Novemer™ EC-2
NV3.v	Veículo correspondente à formulação NV3
NV4	Formulação com 4,0% de Novemer™ EC-2
NV4.v	Veículo correspondente à formulação NV4
NV5	Formulação com 5,0% de Novemer™ EC-2
NV5.v	Veículo correspondente à formulação NV5
O/A	Emulsão óleo em água
PA	Para análise
PNBio	Laboratório de Produtos Naturais Bioativos
p/v	Peso por volume
p/p	Peso por peso
rpm	Rotações por minuto
TEA	Teste de estabilidade acelerada
TEWL	<i>Transepidermal Water Loss</i>
UA	Unidades arbitrárias
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
UR	Umidade relativa
UV	Ultravioleta

---

**SUMÁRIO**

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	16
2.1	CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E HIDRATAÇÃO DA PELE	16
2.2	FORMULAÇÕES E ESTUDOS DE ESTABILIDADES DE COSMÉTICOS	20
2.3	AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFICÁCIA HIDRATANTE	23
2.4	<i>Kalanchoe brasiliensis</i> CAMBESS	25
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	28
3.1	OBJETIVO GERAL	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
<b>4</b>	<b>MATERIAIS, MÉTODOS E CASUÍSTICA</b>	29
4.1	MATERIAIS	29
4.2	MÉTODOS	30
<b>4.2.1</b>	<b>Preparo e caracterização do extrato de <i>K. brasiliensis</i></b>	30
.2.1.1	Material vegetal	30
4.2.1.2	Preparação e caracterização físico-química do extrato hidroetanólico das folhas de <i>K. brasiliensis</i>	30
4.2.1.2.1	Avaliação da solubilidade do extrato de <i>K. brasiliensis</i>	31
4.2.1.2.2	<i>Determinação do teor de umidade e resíduo seco do extrato obtido</i>	31
4.2.1.2.3	<i>Caracterização química do extrato hidroetanólico das folhas de <i>K. brasiliensis</i></i>	31
<b>4.2.2</b>	<b>Desenvolvimento das formulações</b>	32
4.2.2.1	Preparo das emulsões	32
4.2.2.2	Análise macroscópica das formulações	34
4.2.2.3	Determinação do tipo de emulsão	34
4.2.2.4	Testes de estabilidade das emulsões	34
4.2.2.4.1	<i>Testes de estabilidade preliminar</i>	34
4.2.2.4.2	<i>Testes de estabilidade acelerada</i>	36
<b>4.2.3</b>	<b>Avaliação clínica da eficácia hidratante</b>	37
4.2.3.1	Comitê de Ética em Pesquisa	37

---

4.2.3.2	Voluntários	37
4.2.3.3	Avaliação clínica da eficácia hidratante, perda de água transepidermal e função barreira da pele	38
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>40</b>
5.1	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE <i>K. brasiliensis</i>	40
5.2	DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES	44
5.3	AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFICÁCIA HIDRATANTE, PERDA DE ÁGUA TRANSEPIDERMAL E FUNÇÃO BARREIRA	56
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>67</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>68</b>
	<b>ANEXO A – Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UNIC</b>	<b>83</b>
	<b>ANEXO B – Depósito de pedido de patente</b>	<b>87</b>



## 1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido importante fonte para o tratamento de diversas desordens da pele contribuindo significativamente para cuidados saudáveis da mesma (DE WET et al., 2013).

Os extratos vegetais, principalmente adicionados em preparações para uso tópico, consistem de numerosos compostos que, juntos, promovem melhores efeitos sobre a pele e estão associados com propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e antienvhecimento (LALL; KISHORE, 2014).

A Caatinga, único bioma exclusivamente brasileiro, ocupa uma área equivalente a 10% do território brasileiro, englobando grande parte da região Nordeste e parte do norte de Minas Gerais. Apesar de associado à imagem de local pobre e seco, pesquisas recentes vêm revelando a riqueza particular do bioma em termos de biodiversidade e fenômenos característicos. Toda a diversidade de espécies do bioma poderia ser melhor aproveitada economicamente diante de estudos pormenorizados explorando os princípios ativos de cada uma dessas espécies (IHU, 2012).

Nesse contexto, destaca-se a *Kalanchoe brasiliensis*, pertencente ao gênero *Kalanchoe*, Família Crassulaceae, nos quais suas espécies caracterizam-se por serem ricas em alcaloides, triterpenos, glicosídeos, flavonoides, esteroides e lipídeos, além de possuírem propriedades emolientes, mucilaginosas, tônica e anti-inflamatórias (AKULOVA-BARLOW, 2009; CRUZ et al., 2012; KAMBOJ; SALUJA, 2009; MAJAZ et al., 2011). Além dessas propriedades, outras espécies com composição química semelhante tem apresentado efeitos hidratantes, de proteção e reestruturação da função barreira da pele (DAMASCENO, 2014; RIBEIRO et al., 2015).

Alguns fatores intrínsecos e/ou extrínsecos como a estrutura e função da pele, doenças como, por exemplo, diabetes e doenças renais e, as condições ambientais como baixa umidade e/ou baixa temperatura, podem ocasionar o desenvolvimento de pele com característica e aspecto de seca. Nesses casos, o uso de produtos hidratantes é recomendado a fim de restabelecer as propriedades relacionadas ao conteúdo hídrico do estrato córneo e da função barreira (LODÉN, 2014).

A forma cosmética predominantemente de escolha para o desenvolvimento de produtos cosméticos hidratantes são as emulsões. São sistemas em que uma fase contém gotículas dispersas em outra na qual se usa uma energia, mecânica e química, para reduzir a tensão de superfície (RAWLINGS et al., 2004). Assim, é conveniente que a emulsão apresente eficácia clínica frente aos casos de xeroses, conforme outros estudos também demonstraram (MACHADO et al., 2007; RAWLINGS et al., 2004).

A comprovação dos efeitos atribuídos à associação das substâncias ativas em formulações cosméticas torna-se imprescindível, especialmente por meio da avaliação clínica utilizando metodologias não-invasivas na pele humana. A possibilidade de desenvolver produtos tópicos e avaliar a interação com o estrato córneo tem aumentado com o advento dessas técnicas de biometrologia cutânea (GIANETI et al., 2013; LODÉN, 2014).

Técnicas de bioengenharia cutânea como a avaliação do conteúdo hídrico por meio de capacitância e da integridade da função barreira da pele pela medida da perda de água transepidermal têm sido utilizadas para avaliar a hidratação e/ou características da superfície da mesma permitindo o desenvolvimento de produtos hidratantes com eficácia clínica comprovada (FARIA; DAMASCENO; FERRARI, 2014; KHAN et al., 2012; MAHMOOD et al., 2010; RIBEIRO et al., 2015).

Seguindo a tendência globalizada do uso de extratos vegetais no desenvolvimento de produtos cosméticos e considerando que não há dados na literatura sobre o uso da *Kalanchoe brasiliensis* na área cosmética, essa pesquisa teve como objetivos desenvolver emulsões aditivadas com o extrato hidroetanólico das folhas da planta em estudo e avaliar a eficácia clínica no tocante ao efeito hidratante e à função barreira da pele.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E HIDRATAÇÃO DA PELE**

A pele recobre toda a superfície corporal dos mamíferos e é considerada uma barreira anatômica e fisiológica que separa os ambientes interno e externo do organismo. É dividida em duas partes principais, epiderme e derme, sendo a primeira a camada de revestimento sobre a superfície, compreendendo a barreira de defesa contra agentes microbianos (bactérias, fungos e vírus), químicos (irritantes e alergênicos) e físicos (agressões mecânicas e irradiação UV), e a segunda, camada mais profunda com funções de sustentação, conectiva e de nutrição. A hipoderme não tem sido considerada estrutura da pele propriamente dita, apresentando funções específicas e atuando na união entre a pele e órgãos subjacentes (BARONI et al., 2012; ELIAS, 1983; PROKSCH et al., 2008).

Paradigmas sobre a estrutura e bioquímica da pele, particularmente do estrato córneo e da epiderme viável têm sido elucidados. Sabe-se que a epiderme consiste de quatro camadas distintas. Cada camada fornece um estágio de diferenciação sequencial dos queratinócitos, o mais abundante tipo celular da epiderme. As camadas incluem o estrato córneo superficial (EC), considerado a parte da epiderme não viável e produto da diferenciação celular, enquanto que os estratos granuloso, espinhoso e o basal, são considerados como parte da epiderme viável. A migração dos queratinócitos da camada basal até atingir a superfície da pele, faz com que ocorra a sua diferenciação morfofisiológica, assumindo as características de células totalmente preenchidas por queratina, denominadas corneócitos (MENON et al., 2012; VAN SMEDEN et al., 2014).

A epiderme é vital na manutenção das funções da pele e proteção contra as agressões externas tendo como principal barreira epidermal o estrato córneo. Essa camada apresenta espessura variada composta pelos corneócitos interligados por corneodermossomos e lipídeos intercelulares, formando uma camada de células contendo proteínas envoltas por uma matriz intercelular rica em lipídeos não polares (BARONI et al., 2012; ELIAS, 1983; PROKSCH et al., 2008; RAWLINGS, 2014). Atua como proteção cutânea contra agentes químicos e microrganismos, sendo também responsável pela regulação do conteúdo aquoso do organismo para o

ambiente, conhecida como perda de água transepidermal (*Transepidermal Water Loss - TEWL*) (PROKSCH et al., 2008; WAN et al., 2014).

Alguns estudos têm demonstrado que o estrato córneo é constituído por proteínas, lipídeos e o fator de hidratação natural (*Natural Moisturizing Factor - NMF*), organizados como camadas de lipídeos intercelulares e enzimas proteolíticas e lipolíticas. Os corneócitos presentes em sua estrutura promovem suporte estrutural e mecânico que serve também como reservatório de umidade necessária para a manutenção de processos fisiológicos enzimáticos, e uma matriz lipídica responsável pela defesa contra microrganismos e oxidantes, além de participar da regulação da permeabilidade cutânea (MENON et al., 2012; RAMOS-e-SILVA; JACQUES, 2012; VERDIER-SÉRVRAIN; BONTÉ, 2007; YANG; GUY, 2015).

Sabe-se que indivíduos com dermatite atópica ou xerose apresentam baixos níveis de NMF no estrato córneo, e manter os níveis desses e sua distribuição homogênea no estrato córneo é uma consideração chave no desenvolvimento de novos hidratantes para pele seca. Além disso, na ausência e/ou diminuição de lipídeos intercelulares como o colesterol, as ceramidas, e os ácidos graxos livres, não há uma adequada barreira protetora do fluxo de água transepidermal e eletrólitos do meio interno para o externo, o que torna a superfície cutânea com características de pele seca. Da mesma forma, a manutenção dos lipídeos intercelulares torna-se importante para prevenir a entrada de elementos químicos não desejáveis do ambiente externo para o organismo (FEINGOLD, 2014; FENG et al., 2014; RAWLINGS, 2014).

Assim, a manutenção da homeostasia da barreira epidermal é essencial para o funcionamento dos processos fisiológicos da pele e para a qualidade de vida dos indivíduos. Diversos fatores podem afetar esse equilíbrio, tais como dermatoses, doenças sistêmicas e mudanças fisiológicas (variação hormonal, por exemplo). A renovação celular é mantida por uma série de eventos fisiológicos, que incluem a proliferação epidérmica e a diferenciação envolvendo a síntese de lipídeos dos corpos lamelares (MENON et al., 2012; RAMOS-e-SILVA; JACQUES, 2012).

Alguns mecanismos fisiológicos contribuem para manter a homeostasia e o estado de hidratação cutânea, tais como: glicerol endógeno; aquaporinas, gradiente de íon cálcio na epiderme; processo de descamação regulado pelas enzimas

proteolíticas (calicreína 5 e 7), dentre outros (BONTÉ, 2011; DARLENSKI et al., 2009).

O glicerol é um componente endógeno resultante do produto catabólito de glândulas sebáceas, posteriormente transportado a partir da derme para as camadas basais da epiderme por meio da aquaporina-3 (AQP3), proteína transportadora transmembranar. O glicerol representa um componente essencial para processos bioquímicos e biofísicos da pele, representando uma função importante na manutenção da hidratação da pele. É capaz de atrair e reter água do ambiente e de camadas mais internas do estrato córneo, sendo considerado um dos melhores hidratantes naturais dos sistemas vitais (ATRUX-TALLAU et al., 2010; FLUHR et al., 2008).

De uma maneira geral, as proteínas presentes especialmente no estrato córneo estão envolvidas no controle fisiológico da hidratação. A maioria dos componentes do NMF são aminoácidos derivados da proteína filagrina, associados a uma mistura de moléculas higroscópicas que juntos, mantêm o estrato córneo hidratado (KRAFT; LYNDE, 2005; RAWLINGS; HARDING, 2004).

As aquaporinas (AQP) são proteínas hidrofóbicas e transmembranares que promovem a regulação do conteúdo aquoso presente entre as camadas mais internas da epiderme e o estrato córneo, mantendo constante o conteúdo de água na epiderme viável. Fatores como a idade e radiação UV podem influenciar a expressão desta proteína. Alterações genéticas podem alterar qualitativamente essas proteínas ocasionando modificações da hidratação do estrato córneo (ATRUX-TALLAU et al., 2010; BONTÉ, 2011; FLUHR et al., 2008). Assim, formulações que apresentam na sua composição substâncias que possam promover a expressão dessa proteína, são consideradas produtos hidratantes.

A espessura da epiderme se mantém constante graças ao processo de descamação das camadas mais externas de corneócitos. Este processo é envolvido na descamação dos corneodesmossomos, que unem corneócito a corneócito. Fatores como a presença dos íons cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) estão envolvidos no processo de renovação celular. Quando o conteúdo de  $\text{Ca}^{+2}$  encontra-se diminuído, as células ficam no estado proliferativo, ao passo que quando em concentrações fisiológicas iniciam sua diferenciação (BRANDNER, 2007; KURASAWA et al., 2011; VERDIER-

SÉVRAIN; BONTÉ, 2007). Evidências também apontam um papel chave das calicreínas (KLK) no processo de descamação corneodesmossomal de proteínas extracelulares, onde a KLK-5 parece ser a enzima chave na cascata da protease. A degradação desmossomal é significativamente reduzida em baixa umidade relativa (10%), demonstrando a importância desse fator para esse processo (MIYAI et al., 2014; RAWLINGS et al., 1995).

A pele classificada como normal quanto ao aspecto hídrico, comparada com a seca, possui uma função barreira mais efetiva e conteúdos de NMF e de água mais elevados. Contudo, fatores como a lavagem excessiva com agentes de limpeza, radiação UV, idade avançada e fatores ambientais como inverno e frio influenciam na concentração de NMF, interferindo diretamente nas condições de hidratação, e podem levar a casos de xerose. Ainda são citados em alguns estudos que a pele seca possui um estrato córneo mais espesso e com qualidade de barreira protetora fragilizada (BONTÉ, 2011; FENG et al., 2014; VAN SMEDEN et al., 2014; WANG et al., 2015), levando assim à necessidade de se utilizar produtos hidratantes que possam contribuir para melhoria dessas alterações.

O produto hidratante tem como função primordial aumentar e/ou manter o conteúdo hídrico da pele (DARLENSKI; FLUHR, 2011), e para tal uma das estratégias utilizadas é utilizar substâncias que apresentem propriedades umectantes, oclusivas e/ou hidratação ativa, além de ativos que estimulem a produção de aquaporinas. Esses quatro princípios citados, constituem os principais mecanismos de atuação de produtos cosméticos hidratantes, associados ou não (LODÉN, 2005; RAWLINGS et al., 2004; RIBEIRO, 2010; VERDIER-SÉVRAIN; BONTÉ, 2007; WAN et al., 2014).

O mecanismo da umectação fundamenta-se na atração e retenção de água na pele, captando a umidade da derme para a epiderme e estrato córneo, e retendo também a umidade do ambiente para a pele. A maioria dos umectantes possui baixo peso molecular e são substâncias com propriedades hidrofílicas e higroscópicas, diferindo na sua capacidade de ligação de água, penetração e grau de hidratação sobre a pele (LODÉN, 2005; RAWLINGS et al., 2004; RIBEIRO, 2010; WAN et al., 2014).

Os agentes oclusivos atuam formando uma camada sobre a pele, minimizando a perda de água transepidermal, hidratando por diminuir a evaporação de água (LODÉN, 2005; RAWLINGS et al., 2004; RIBEIRO, 2010; WAN et al., 2014).

O processo de hidratação ativa ou também conhecido como umectação ativa é promovido por substância que tem a capacidade de permear o estrato córneo e hidratar as camadas mais internas (RIBEIRO, 2010; WAN et al., 2014).

Dessa forma, o desenvolvimento de um produto hidratante “ideal” deve privilegiar a ação do ativo ou associação desses que combinem os mecanismos de ação descritos acima em um veículo de aceitação do consumidor, que na maioria dos casos, o de primeira escolha é a emulsão.

## 2.2 FORMULAÇÕES E ESTUDOS DE ESTABILIDADE DE COSMÉTICOS

A maioria dos produtos para os cuidados com a pele e, sem dúvida, os mais importantes, são os hidratantes. Estes possuem função de destaque na manutenção do conteúdo hídrico cutâneo (NOLAN et al., 2012). Uma das formas cosméticas mais funcionais para veicular ativos hidratantes hidro e lipofílicos são as emulsões. São sistemas complexos, termodinamicamente instáveis, compostos de duas fases imiscíveis estabilizadas por um emulsificante. É cada vez mais frequente o desenvolvimento de emulsões utilizando a tecnologia de emulsificação polimérica, onde o polímero, como por exemplo, derivados de acrilatos, é empregado como emulsificante ou como co-emulsificante (ANON, 2002; BARNES, 2004).

Os geis compreendem uma única fase e sua consistência é promovida pelo tipo e concentração do agente geleificante que usualmente é um polímero. Devido a capacidade de formar uma rede polimérica, propicia aumento na viscosidade, exibindo propriedades viscoelásticas (DANIELS, 2002). Assim, a associação de polímeros em emulsões pode resultar em aumento na viscosidade, alterações dos parâmetros reológicos e conseqüentemente aumento da estabilidade dos sistemas.

A composição de um produto cosmético determina o sensorial esperado quando uma formulação é aplicada sobre a pele, assim, um dos desafios dos formuladores é aliar um sensorial agradável, aceitável pelo consumidor com a estabilização do sistema e suas propriedades reológicas, em especial na presença de eletrólitos (OLLAGNIER et al., 2012; RAWLINGS et al., 2004; WITTERN et al.,

2001). O comportamento reológico das emulsões é extremamente importante na escolha da formulação, textura e características sensoriais, percepção do consumidor, condições de processo, e controle de qualidade (DERKACH, 2009; RUTTARATTANAMONGKOL et al., 2015; WITTERN et al., 2001).

O *Sodium Acrylates/Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated polydecene (and) Lauryl Glucoside*, um copolímero de acrilato aniônico pré-neutralizado é utilizado pela indústria cosmética com o intuito de conferir emulsificação, co-emulsificação, estabilização e modificação na reologia, mas com uma melhor tolerância a eletrólitos (OLLAGNIER et al., 2012). Uma vez disperso em água, a pressão osmótica provocada pela dissociação dos grupos iônicos do polímero, juntamente com a repulsão interpolimérica devido à carga iônica, causa o espessamento rápido e à modificação reológica. A presença de um monômero hidrofóbico na estrutura, além dos baixos níveis do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL), confere a esse polímero boa capacidade emulsionante e promoção da estabilidade do sistema (OLLAGNIER et al., 2012).

Apesar do copolímero citado apresentar boa performance em sistemas contendo eletrólitos, é recomendado pela literatura (NOVEMER™ EC-2, 2011) a adição do *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*, atuando como um co-emulsificante na formulação, incrementando a viscosidade e a resistência a eletrólitos (NOVEMER™ EC-2, 2011; OLLAGNIER et al., 2012). A associação dessas duas substâncias permite a formulação de uma emulsão com reduzido conteúdo oleoso, estabilizada por polímero hidrofílico (CAPITANI et al., 2012).

No Brasil, não há protocolos para estudos de estabilidade de produtos cosméticos em compêndios oficiais. Contudo, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) disponibiliza um guia orientativo com sugestões e diretrizes para a realização dos estudos de estabilidade em produtos cosméticos (ANVISA, 2004). Estes testes devem se adequar aos objetivos do formulador, da forma cosmética e constituintes da formulação (PIANOVSKI et al., 2008).

Este guia objetiva a garantia da qualidade enfatizando os estudos de estabilidade para a manutenção das características do produto durante seu prazo de validade (ANVISA, 2004). De acordo com a *International Federation of Societies of Cosmetic Chemists* – IFSCC (IFSCC, 1997), os testes de estabilidade são



procedimentos preditivos, fundamentados em dados de produtos que são expostos em condições que visam acelerar possíveis alterações.

A proposta dos testes de estabilidade é evidenciar como a qualidade das substâncias e produtos podem variar sob condições de estresse. Variáveis quanto à formulação, processo de fabricação, material de acondicionamento e às condições ambientais e de transporte podem influenciar a estabilidade do produto (ANVISA, 2004).

Acelerar possíveis fenômenos de instabilidade nas formulações quando submetidas à temperatura elevadas, ciclos de temperatura, centrifugação e vibrações para simular as condições de transporte, representam uma análise racional e necessária para prever a estabilidade da formulação (GUARATINI; GIANETI; MAIA CAMPOS, 2006; TADROS, 2004). Entender o mecanismo de degradação dos componentes pode, por sua vez, ser útil na concepção de métodos de estabilização (WATERMAN et al., 2005).

Nos testes de estabilidade, as amostras são periodicamente averiguadas sob mudanças em características importantes, como por exemplo, o aspecto macroscópico. Os estudos de estabilidade iniciam-se pelos testes preliminares, conhecidos como testes rápidos ou de triagem, na fase inicial do desenvolvimento. Posteriormente, os produtos formulados são submetidos aos testes de estabilidade acelerada, os quais objetivam determinar a vida útil. Neste estudo, variando a temperatura pode-se modificar a viscosidade e/ou solubilidade, a facilidade de cremeação, coalescência, fusão de ceras ou hidratação de polímeros, sendo uma ótima e rápida ferramenta de indução de alterações químicas ou físicas nas formulações, e por fim, os testes de longa duração que objetivam confirmar os dados extrapolados pelos testes acelerados determinando o prazo de validade e a estabilidade do produto (ALMEIDA et al, 2006; ANVISA, 2004; DAUDT, 2015).

Além disso, o prazo de validade pode ser facilmente estimado, através da realização de estudos de estabilidade acelerada em condições que produzam a degradação ou formação de produtos de degradação em maior medida do que os níveis permitidos, onde fatores como processos de hidrólise e oxidação, reação do ativo com excipientes, degradação fotoquímica e influência da embalagem do produto podem ser fatores importantes dessas análises. Dessa forma, a

necessidade para um rápido desenvolvimento de formulações tem aumentado a implementação de medidas de estabilidade acelerada que são preditivas de condições reais de estocagem (WATERMAN et al., 2005).

### 2.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFICÁCIA HIDRATANTE

A barreira da pele exposta constantemente a agressores externos faz o estrato córneo e as partes subjacentes da epiderme responderem a esses estímulos. As alterações podem ser observadas clinicamente ou a partir de estudos histológicos quando realizada a biópsia. No entanto, atualmente é possível verificar essas evidências utilizando técnicas não invasivas (MENON et al., 2012).

A necessidade em fundamentar formalmente a eficácia relacionada a um produto requer medidas objetivas das respostas da pele. Novas abordagens bioquímicas e o desenvolvimento de equipamentos de biometrologia cutânea têm conseguido avaliar as propriedades biofísicas da pele de forma não invasiva, permitindo determinar a eficácia de produtos cosméticos e/ou estabelecerem tratamentos na área de dermatologia. Os benefícios destes métodos não-invasivos não estão apenas relacionados à avaliação da alteração da barreira cutânea, mas também por permitir a detecção de alguns efeitos subclínicos não perceptíveis macroscopicamente (CAMARGO JUNIOR et al., 2011; HUA et al., 2014; LÓDEN, 1995; ROGIERS et al., 1999; SOTOODIAN, MAIBACH, 2012).

Vários são os métodos de avaliação e pesquisa das alterações da pele, e essas técnicas de bioengenharia cutânea são capazes de fornecer informações nas quais na avaliação clínica não conseguem ser detectados. Devido à complexidade da estrutura da pele, um único parâmetro não é suficiente para analisar as propriedades fisiológicas e biofísicas da pele, necessitando assim, da associação de métodos diferentes (HUA et al., 2014).

A pele seca pode indicar o sintoma de uma desordem, sendo o uso de agentes hidratantes e a prevenção da perda de água transepidermal uma maneira de tratar essa aridez. A determinação do conteúdo hídrico das camadas mais externas do estrato córneo e a perda de água transepidermal são os parâmetros mais usados na avaliação da hidratação e função barreira da pele, sendo o corneômetro e o evaporímetro instrumentos utilizados, respectivamente para

avaliação desses parâmetros (DAMASCENO, 2014; HUA et al., 2014; PLESSIS et al., 2013; RIBEIRO et al., 2015; SOHAIL et al., 2015).

O conteúdo de água do estrato córneo influencia várias características físicas da pele como função barreira, penetração de substâncias, e propriedades mecânicas. O Corneometer<sup>®</sup> tem sido um dos equipamentos utilizados para determinar o nível de hidratação da pele (estrato córneo). O princípio da avaliação está pautado na alteração da constante dielétrica, alterada pela capacitância dependendo do conteúdo hídrico. Todos os seus dados são expressos em unidades arbitrárias (UA), variando de 0 a 120 UA. Os resultados obtidos são fortemente influenciados pelas propriedades da superfície da pele, e os valores medidos diminuem com o aumento da rugosidade (ANTHONISSEN et al., 2015; BERARDESCA, BORRONI, 1995; CAMARGO JUNIOR, 2011; CHENG et al., 2009; COURAGE KHAZAKA, 2015a; LEITE e SILVA et al., 2009; ROGIERS et al., 1999).

Diversas publicações têm demonstrado que a perda de água transepidermal é um bom indicador da integridade da função barreira da pele, sendo refletida por uma variação nessa TEWL. Um dos equipamentos utilizado para avaliar a integridade da barreira da pele por meio da perda contínua de água é o Tewameter<sup>®</sup>. O eletrodo deste aparelho mede a evaporação de água que ocorre na superfície da pele, sendo estes valores dados em g/mm<sup>2</sup>.h (HOEKSEMA et al., 2013; KAHN et al., 2012; PLESSIS et al., 2013; ROGIERS et al., 1999; SOTOODIAN, MAIBACH, 2012).

Normalmente, voluntários humanos com pele saudável são selecionados, e os produtos são aplicados somente quando são considerados seguros de acordo com o perfil toxicológico de seus ingredientes. Fatores exógenos (banhos, solventes/surfactantes), região anatômica (rosto, antebraços, mão), e fatores endógenos como idade, temperatura da pele, ritmo circadiano, doenças da pele e condições ambientais podem influenciar na avaliação da hidratação e da TEWL (PLESSIS et al., 2013). Assim, através dessas medidas padronizadas tanto para o conteúdo de água do estrato córneo quanto para a avaliação da função barreira, os valores podem ser expressos numericamente, tornando capaz a investigação da eficácia de produtos cosméticos hidratantes aplicados sobre a pele (HOEKSEMA et al., 2013; ROGIERS et al., 1999).

#### 2.4 *Kalanchoe brasiliensis* CAMBESS

O gênero *Kalanchoe* é um dos mais importantes na medicina e compreende aproximadamente 125 espécies, divididas em 15 grupos taxonômicos e reunidos em 3 seções. As espécies dessa família (Crassulaceae) apresentam características xeromórficas de adaptação à intensa luminosidade e escassez de água. Entre as espécies desse gênero destaca-se a *Kalanchoe brasiliensis* Cambess, nativa do Brasil, cultivada na Caatinga, conhecida popularmente como Saião, Coirama branca, Folha da Fortuna, Para-tudo, Fortuna de Flores Amarelas, Folha da Costa, Folha Grossa em Alagoas, Coerana em Pernambuco e Erva da Costa na Bahia (AMARAL; SIMÕES; FERREIRA, 2005; COSTA et al., 2006; GEHRIG et al., 2001; HERRERA, 2008).

Espécie comumente cultivada em regiões semiáridas nordestinas, a *K. brasiliensis* tem seu uso bastante difundido nas comunidades que habitam essas áreas, geralmente praticantes de agricultura de subsistência (ALBUQUERQUE et al., 2007; ALMEIDA et al., 2010). Popularmente é utilizada para o tratamento de feridas, abscessos, furúnculos, infecções geniturinárias, coqueluche e demais afecções respiratórias, e conhecida por sua ação contra úlceras e gastrites. Espécies do gênero *Kalanchoe* sul-americanas são conhecidas pelo uso no tratamento de câncer, inflamações, febres, tosses, dores de cabeça, e muitas outras doenças (AKULOVA-BARLOW, 2009; CUNHA et al., 1995; LISBOA; FERREIRA; SILVA, 2006; SILVA et al., 2006).

A *K. brasiliensis* (Figura 1A) é frequentemente usada indistintamente pela medicina popular com a *Kalanchoe pinnata* (Figura 1B) (COSTA et al., 2008). A principal característica que possibilita a distinção entre estas espécies é o aspecto da folha, uma vez que a primeira apresenta a margem da folha ondulada a subcrenada e a *K. pinnata* possui a folha nitidamente crenada (LORENZI; MATOS, 2008).

O suco das folhas de *K. brasiliensis* contém vários polissacarídeos, flavonoides, ácido ascórbico dentre outros compostos (FORTES et al., 2008; MOURÃO et al., 1999). Embora seja extensamente usada na medicina popular, seus constituintes químicos ainda não são totalmente conhecidos e elucidados. Além disso, há escassez de estudos voltados para isolamento e elucidação de compostos,

sendo a grande maioria dos trabalhos direcionados à presença de flavonoides (FERNANDES, 2012). Fernandes (2015), após análises cromatográficas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) do extrato hidroetanólico 50% das folhas de *K. brasiliensis*, sugeriu a presença de compostos fenólicos e flavonoides, especialmente glicosilados.

**Figura 1**– Aspectos da planta e das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* e da *Kalanchoe pinnata*.



Onde: (A) *Kalanchoe brasiliensis*; (B) *Kalanchoe pinnata*. Fonte: Autoria própria.

Os flavonoides da *K. brasiliensis* apresentam 7 classes, sendo predominante os O-glicosilados, aglicona flavonoídicas (absorvem radiação UV) e agliconas derivadas dos flavonóis patuletina, quercetina e canferol. A quercetina e canferol são flavonoides amplamente distribuídos no reino vegetal, e apresentam propriedades antioxidantes uma vez que são captadores de radicais livres. Soma-se a isso o fato desses compostos, com sua alta atividade antioxidante, tornarem-se atrativos como ingredientes cosméticos (CUNHA et al., 2004; YOON; BAEK, 2005).

Os compostos fenólicos são frequentemente esterificados com açúcares ou ácidos orgânicos resultando em uma variedade de mais de 5.000 substâncias encontradas em plantas. Sua utilidade se estende desde a inibição de proteinases, que catalisam proteínas da pele como elastina e colagenase, responsáveis pela firmeza da pele; combate ao estresse oxidativo e proteção da pele contra o fotoenvelhecimento em longo prazo, dentre outros (ZILLICH et al., 2015).

Estudos têm demonstrado resultados positivos quanto ao uso de extratos vegetais frente ao efeito hidratante (DAL´BELO et al., 2006; DAMASCENO, 2014; GIANETI et al.; 2013; RIBEIRO et al., 2015). Além de saber que os polifenóis atuam de variadas formas sobre a pele, alguns estudos vêm demonstrando novas alternativas de proteção da pele pela aplicação tópica de substâncias polissacarídeas com potencial antioxidante. Das diversas frações extraídas de plantas, sabe-se que os polissacarídeos têm sido identificados como principais ingredientes ativos responsáveis por várias atividades farmacológicas, dentre elas as ações antioxidante e hidratante. Geralmente estão presentes associados com outros compostos como proteínas, lipídeos, polinucleotídeos e algumas substâncias minerais inorgânicas, podendo ser aplicados nas mais diversas áreas da indústria farmacêutica e cosmética (BONTÉ, 2011; LIU et al., 2015; TROMMER; NEUBERT, 2005; ZILLICH et al., 2015).

As mucilagens de polissacarídeos heterogêneos são constituintes naturais de plantas que têm propriedade intumescente na presença de água, e é de conhecimento científico que esses apresentam propriedades de hidratação da pele (POSER, 2004; YOKOYAMA et al., 2014).

Assim, como o apelo pelo ingrediente natural está continuamente ganhando popularidade, em especial, o uso de extratos vegetais, considerando que não há relatos do uso da *K. brasiliensis* em produtos cosméticos e tendo em vista a composição química relatada, essa pesquisa teve como objetivos desenvolver e avaliar formulações aditivadas com o extrato hidroetanólico das folhas de *K. brasiliensis* assim como, a eficácia clínica hidratante.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolvimento de emulsões cosméticas contendo extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess e avaliação da eficácia clínica hidratante.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1 Preparo e caracterização do extrato hidroetanólico de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess a partir das folhas;

3.2.2 Desenvolvimento de emulsões contendo o extrato de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess;

3.2.3 Estudos da estabilidade preliminar e acelerada das formulações desenvolvidas;

3.2.4 Avaliação clínica da hidratação do estrato córneo;

3.2.5 Avaliação clínica da perda de água transepidérmica e da função barreira da pele.

## 4 MATERIAIS, MÉTODOS E CASUÍSTICA

### 4.1 MATERIAIS

Para o preparo das formulações foram utilizados o *Sodium Acrylates/Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside* (Novemer™ EC-2), *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* (Carbopol® Ultrez 20) que foram doados pela Lubrizol do Brasil Ltda. (São Paulo, SP, Brasil); *Disodium EDTA* (EDTA) (DEG Importação de Produtos Químicos, Sorocaba, SP, Brasil); *Aminomethyl Propanol* (AMP 95) (Via Farma, São Paulo, SP, Brasil); *Phenoxyethanol (and) Methylparaben (and) Ethylparaben (and) Butylparaben (and) Isobutylparaben* (Phenova®) fornecido pela Croda do Brasil (Campinas, SP, Brasil) e Água destilada (Aqua). A nomenclatura dos ingredientes foi apresentada de acordo com a *International Nomenclature of Cosmetic Ingredient – INCI* (COSING, 2015).

Todas as matérias-primas utilizadas no desenvolvimento das formulações, citadas acima, são de grau cosmético e constantes nas listas da *Cosmetic Ingredient Review – CIR* (CIR, 2015) e na *European Commission Health and Consumers – Cosmetics Ingredients & Substances – Cosing* (COSING, 2015). Quando o ingrediente está presente nessas bases de dados, indicam que os mesmos são seguros para fins cosméticos.

Para o preparo dos extratos foi utilizado o álcool etílico (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP, Brasil) e para os testes de solubilidade o propilenoglicol e o álcool etílico (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP, Brasil).

Para as metodologias quantitativas os seguintes produtos e reagentes foram utilizados: Ácido gálico, Ácido Sulfúrico P.A.; Albumina sérica bovina; Carbonato de Sódio 20%; Galactose; Reagente de Bradford; Reagente de FolinCiocalteu; Solução de fenol 80%.



## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Preparo e caracterização do extrato de *K. brasiliensis*

#### 4.2.1.1 Material Vegetal

As folhas de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess foram obtidas em local de cultivo da Asmarana Indústria e Comércio de Produtos Naturais Ltda (Macaíba – RN). A identificação botânica foi realizada pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Iracema Bezerra Loyola (Departamento de Biologia/UFRN), onde foi depositada uma exsicata sob registro n°. 5468.

#### 4.2.1.2 Preparação e caracterização físico-química do extrato hidroetanólico das folhas de *K. brasiliensis*

A solução extrativa das folhas de *K. brasiliensis* foi obtida pelo método padronizado por Matos (2009). A matéria-prima vegetal (folhas sem talos e frescas) foi processada por turboextração em liquidificador (Faet, mod. FWAKE, Brasil) por  $\pm 5$  minutos com álcool etílico PA 50% (v/v), na proporção 1:1 (p/v) (droga vegetal: solvente).

Após obter o extrato pela turboextração, foi realizada a filtração a vácuo, formando assim o extrato hidroetanólico 50% (EH) das folhas de *K. brasiliensis*, onde a partir de 4,0kg de folhas frescas de *K. brasiliensis* foi obtido 8L do extrato hidroetanólico 50% (FERNANDES, 2012). As amostras foram submetidas à evaporação da fase orgânica sob pressão reduzida com auxílio de evaporador rotatório (Büchi, mod. R3, Suíça) a temperatura não superior a 45°C (FERNANDES, 2012). Posteriormente, no processo de liofilização, as amostras foram previamente congeladas em freezer a – 20°C, e liofilizadas (Liotop, mod. 202, Brasil) por 48 horas, obtendo-se o extrato liofilizado de *K. brasiliensis* (extrato seco).

O rendimento foi calculado em função da massa total de planta fresca utilizada e da massa seca da planta, através da equação (1):

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{m \text{ pó seco}}{m \text{ planta utilizada}} \times 100\% \quad (1)$$

O extrato foi preparado e fornecido para os experimentos pelo Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais Bioativos – PNBio, da Faculdade de Farmácia da UFRN.

#### 4.2.1.2.1 Avaliação da solubilidade do extrato de *K. brasiliensis*

Fundamentados na análise da solubilidade por fases (BRASIL, 2010; TORRES; GEBARA; STEFANELLO, 2010), diferentes concentrações do extrato foram testadas a volumes constantes de diferentes solventes, visando à obtenção de solução saturada desse extrato.

Foram realizados os testes de solubilidade do extrato hidroetanólico de *Kalanchoe brasiliensis* nas concentrações de 1,0%, 5,0% e 10,0% (p/v) em propilenoglicol, álcool etílico a 5,0% e água destilada. Foram pesadas as quantidades do extrato e adicionado os solventes, homogeneizado manualmente e verificado a formação de solução ou precipitado. Quando não identificado nenhum precipitado, a solução foi submetida à centrifugação (Fanem, mod. Excelsa II 206 BL, Brasil) a 3000rpm por trinta minutos.

Os testes de solubilidade foram realizados nos valores de pH de 4, 5, 6 e 7 com o agente corretor de pH AMP 95.

#### 4.2.1.2.2 Determinação do teor de umidade e resíduo seco do extrato obtido

Para este procedimento foi utilizado uma balança semianalítica de análise por Infravermelho (Bel Engineering, mod. Top Ray, Itália). A fonte de aquecimento foi um emissor halógeno Philips de alta eficiência (400 W), e a sensibilidade de 0,001g. Os parâmetros de análise foram: massa inicial da amostra: 1,00g; temperatura: 105°C; tempo de análise: 1 minuto (BRASIL, 2008).

#### 4.2.1.2.3 Caracterização química do extrato hidroetanólico das folhas de *K. brasiliensis*

a) Dosagem de açúcares totais: a quantificação de açúcares totais foi realizada por meio do método fenol/ácido sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). As leituras foram realizadas no espectrofotômetro (Fento, Brasil) em 490nm. O ensaio foi

realizado em temperatura ambiente ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e para a curva padrão foi utilizada a galactose.

b) Dosagem de proteínas: para as dosagens de proteínas utilizou-se o método de Bradford (1976). As leituras foram realizadas no espectrofotômetro (Epoch – BioTek, California, USA) em 595nm. O ensaio foi realizado em temperatura ambiente ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e para a curva padrão foi utilizada a albumina sérica bovina (BSA).

c) Dosagem de compostos fenólicos: a quantificação dos compostos fenólicos foi realizada por meio do método de Athukorala, Kim & Jeon (2006). As leituras foram realizadas no espectrofotômetro (Epoch – BioTek, California, USA) em 765nm. O ensaio foi realizado em temperatura ambiente ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e protegido da luz. Utilizou-se ácido gálico como padrão para o preparo da curva.

#### **4.2.2 Desenvolvimento das formulações**

##### 4.2.2.1 Preparo das emulsões

As emulsões foram obtidas por processo a frio e formuladas com diferentes concentrações de Novemer™ EC-2 (2,0%, 3,0%, 4,0% e 5,0%) aditivadas ou não com o extrato (Tabela 1).

Em um recipiente foram adicionados o *Disodium* EDTA e solubilizado em parte da água onde se pulverizou o Carbopol® Ultrez 20. Após hidratação do polímero, o sistema foi submetido à agitação mecânica (Ika, mod. RW 20 digital, Alemanha) a 300rpm por 30 minutos até completa dispersão do polímero. Sob a mesma agitação e tempo o AMP 95 foi adicionado à formulação até valor de pH 6,5. Após essa etapa foi adicionado o Novemer™ EC-2 e homogeneizado a 300rpm por 5 minutos. Formado o gel sob agitação, foi adicionado 0,5% do extrato liofilizado solubilizado em parte da água da formulação (para as formulações com o extrato). Na etapa final adicionou-se o Phenova® e submeteu-se à agitação de 300rpm por 1 minuto. Todas as formulações foram preparadas em 3 lotes.

**Tabela 1** - Composição das emulsões com e sem extrato liofilizado de *Kalanchoe brasiliensis*.

Composição↓	NV2 (%) p/p	NV2.v (%) p/p	NV3 (%) p/p	NV3.v (%) p/p	NV4 (%) p/p	NV4.v (%) p/p	NV5 (%) p/p	NV5.v (%) p/p
<i>Dissodium EDTA</i>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
<i>Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer</i>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
<i>Aminomethyl Propanol</i>	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
<i>Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside</i>	2,00	2,00	3,00	3,00	4,00	4,00	5,00	5,00
Extrato hidroetanólico de <i>Kalanchoe brasiliensis</i>	0,50	----	0,50	----	0,50	----	0,50	----
<i>Phenoxyethanol (and) Methylparaben (and) Ethylparaben (and) Butylparaben (and) Isobutylparaben</i>	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Aqua	96,05	96,55	95,05	95,55	94,05	94,55	93,05	93,55

**Legenda:** **NV2** = formulação com 2,0% de Novemer™ EC-2; **NV2.v** = veículo correspondente a formulação NV2; **NV3** = formulação com 3,0% de Novemer™ EC-2; **NV3.v** = veículo correspondente a formulação NV3; **NV4** = formulação com 4,0% de Novemer™ EC-2; **NV4.v** = veículo correspondente a formulação NV4; **NV5** = formulação com 5,0% de Novemer™ EC-2; **NV5.v** = veículo correspondente a formulação NV5.

#### 4.2.2.2 Análise macroscópica das formulações

A análise macroscópica (ou visual) foi realizada após vinte e quatro horas do preparo das formulações, observando as características organolépticas e a homogeneidade das formulações para que fenômenos de instabilidade tais como cremação, floculação e coalescência fossem identificados (FERRARI, 1998, 2002). Foram utilizados os seguintes critérios de registros para as observações: Normal ou sem alterações (N); Levemente modificada (LM); Modificada (M) e Intensamente modificada (IM) (ANVISA, 2004; FERRARI, 1998, 2002).

As formulações que mantiveram as características organolépticas e estabilidade macroscópica, foram submetidas aos testes de estabilidade preliminar.

#### 4.2.2.3 Determinação do tipo de emulsão

Em um tubo de ensaio foram adicionados 1,0g da amostra e 9,0g de água destilada. Após homogeneização, observou-se o aspecto (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1995). A amostra que apresentou aspecto homogêneo foi caracterizada do tipo O/A.

#### 4.2.2.4 Testes de estabilidade das emulsões

##### 4.2.2.4.1 Testes de estabilidade preliminar

a) Teste de centrifugação: Em tubo de ensaio cônico para centrifuga (Fanem, mod. Excelsa II 206 BL, Brasil) foram adicionadas 10g de cada formulação e submetidas a 3000rpm durante trinta minutos a temperatura ambiente ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) (FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

As amostras que não apresentaram alterações no teste de centrifugação foram submetidas aos testes de estresse térmico e ciclo-degela.

b) Estresse térmico: As amostras foram submetidas ao aquecimento em banho termostático (LOGEN, mod. LSBMLS 2006-2, Brasil) na faixa de temperatura de 40 a  $80^{\circ}\text{C}$ , com o aumento da temperatura em intervalos de  $5^{\circ}\text{C}$ , a cada ciclo, mantendo-se por trinta minutos (duração de um ciclo) em cada temperatura. As leituras foram realizadas antes e ao término de  $80^{\circ}\text{C}$ , após o

arrefecimento natural das amostras a temperatura ambiente ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) (BRACONI et al., 1995; FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

c) Ciclo gela-degela: As amostras foram submetidas a  $4\pm 2^{\circ}\text{C}/24$  horas (Geladeira Consul, Mod. 280, Brasil) e  $45\pm 2^{\circ}\text{C}$  e  $75\pm 5\%$  de umidade relativa (UR) por 24 horas (Câmara Climática Nova Ética, mod. 420-CLDTS150, Brasil), completando assim um ciclo. As leituras foram realizadas antes do início do teste e no final do 6º ciclo (12º dia) (FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

Utilizou-se como parâmetros de avaliação nos testes de estresse térmico e ciclo gela e degela: análise macroscópica, determinação dos valores do pH e da condutividade elétrica e avaliação da viscosidade aparente.

d) Análise macroscópica: observou-se as características organolépticas e a homogeneidade das formulações utilizando os mesmos critérios de registros das observações do item 4.2.2.2 (ANVISA, 2004; FERRARI, 1998, 2002).

e) Determinação do valor do pH: Em um tubo de ensaio foram adicionados 1,0g da amostra e 9,0g de água recém destilada, homogeneizadas e determinado o valor do pH inserindo o eletrodo (Bel Engineering, mod. W3B, Brasil) diretamente na amostra diluída (1:10) (DAVIS, 1977; FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

f) Determinação da condutividade elétrica: Foi avaliada a condutividade elétrica das formulações à temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  inserindo o eletrodo (Logen Scientific, mod. CD-300-K1, Brasil) diretamente na amostra (FERRARI, 1998, 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

g) Determinação da viscosidade aparente: A determinação da viscosidade foi realizada em viscosímetro digital (Brookfield, mod. RVDV-III, EUA) tipo cone e placa, acoplado a um Software Rheocalc versão V3.01. Os parâmetros foram determinados

a  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  utilizando o *spindle* CP52 ( $d=12\text{ mm}$ ,  $\Theta=3,0^{\circ}$ ) e 0,5g da amostra. Os reogramas foram obtidos com curvas ascendentes e descendentes com aumento da velocidade de rotação progressivo (1-3rpm) para obter-se a curva ascendente, e o procedimento foi repetido no sentido inverso com a diminuição das velocidades (3-1rpm) para obter-se a curva descendente. As medidas foram realizadas em intervalos de 0,5rpm, mantendo a rotação durante 60 segundos em cada velocidade (LIMA et al., 2008).

e) Análise estatística: Os resultados experimentais foram submetidos à análise de normalidade da distribuição amostral e avaliados pelo teste da Análise de Variância (ANOVA) e, complementarmente, através do teste de Dunnett. Foram avaliados pelo programa *GraphPad Prism 5*, com significância estatística  $p < 0,05$ .

#### 4.2.2.4.2 Testes de estabilidade acelerada

Foram adicionadas trinta gramas das formulações consideradas estáveis pelos testes preliminares em potes de poliestireno e submetidas a condições variáveis de temperatura: temperatura ambiente ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ); geladeira (Geladeira Consul, Mod. 280, Brasil) ( $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ ); câmara climática (Nova Ética, mod. 420-CLDTS150, Brasil) a  $45\pm 2^{\circ}\text{C}$  e 75±5% UR. As leituras foram realizadas nos tempos 1 (24 horas após preparo da amostra), 30, 60 e 90 dias.

Todas as amostras foram analisadas macroscopicamente observando as características organolépticas e homogeneidade (4.2.2.4.1 d), determinação do valor do pH (4.2.2.4.1.e) e comportamento reológico. Foram preparados três lotes e as avaliações realizadas em triplicata em cada lote.

a) Determinação do comportamento reológico: Foram utilizados os mesmos parâmetros do item 4.2.2.4.1.g A partir das análises, foram obtidos a viscosidade mínima aparente e calculados a área de histerese e a partir da equação de Power Law, os índices de fluxo e de consistência (HAN et al., 2011).

b) Análise estatística: Os resultados experimentais foram submetidos à análise de normalidade da distribuição amostral e avaliados pelo teste da Análise de

Variância (ANOVA) e, complementarmente, através do teste de Dunnets, com significância estatística  $p < 0,05$ . Foram avaliados pelo programa *GraphPad Prism 5*.

### **4.2.3 Avaliação clínica da eficácia hidratante**

#### **4.2.3.1 Comitê de Ética em Pesquisa**

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cuiabá sob registro 041CEP/UNIC – protocolo n°. 2012-041 e parecer n°. 195.680/2013 CEP/UNIC, respectivamente (Anexo A).

#### **4.2.3.2 Voluntários**

Os ensaios de avaliação clínica da eficácia hidratante foram realizados no Laboratório de Segurança e Eficácia de Produtos Cosméticos da UFRN. Foram selecionados 18 voluntários (DARLENSKI; FLUHR, 2011), onze (11) mulheres e sete (7) homens, com idades entre 18-50 anos, os quais foram esclarecidos e orientados sobre os objetivos e métodos da pesquisa, e que concordaram em participar após ler e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa. Os voluntários foram orientados a não utilizar produtos cosméticos durante as duas semanas que antecederam os experimentos e no próprio dia, exceto produtos de higiene pessoal como sabonetes.

Foram excluídos das avaliações os voluntários que apresentaram doenças de pele que pudessem interferir nos resultados dos experimentos; portadores de doenças sistêmicas possuíam histórico de reações fototóxicas ou fotoalérgicas; que se expunham frequentemente ao sol ou câmaras de bronzado; apresentavam sensibilidade conhecida a produtos cosméticos; estavam no período de gestação ou lactação; ou fazendo uso de fármacos anti-inflamatórios ou imunossupressores (DAMASCENO, 2014; DARLENSKI; FLUHR, 2011). Os dados para inclusão e exclusão dos voluntários foram obtidos por meio de um formulário.



#### 4.2.3.3 Avaliação clínica da eficácia hidratante, perda de água transepidermal e função barreira da pele.

A metodologia de avaliação da eficácia hidratante foi adaptada de Damasceno (2014) e Ribeiro e colaboradores (2015). Quatro áreas de 3x3 cm (9 cm<sup>2</sup>) (C1 a C4) foram demarcadas nos antebraços dos voluntários (Figura 2), sendo um dos campos (C1) utilizado como controle negativo, onde não foi aplicada nenhuma formulação. Os demais campos (C2 a C4) foram aplicados respectivamente a formulação sem extrato (veículo), a formulação contendo 0,5% do extrato liofilizado de *K. brasiliensis* e uma formulação comercial (Hidrafil<sup>®</sup> gel) contendo como agentes estruturantes o *Carbomer* (Carbopol<sup>®</sup>) e *PVP/eicosene copolymer* (copolímero PVP/eicoseno). Esse último campo foi utilizado como controle positivo do experimento.

As amostras foram pesadas e aplicadas nas áreas demarcadas na concentração de 2 mg/cm<sup>2</sup>, no sentido das fibras musculares, massageado por 10 segundos (DARLENSKI; FLUHR, 2011).

**Figura 2.** Áreas demarcadas nos antebraços para as aplicações das amostras e controle negativo.



Fonte: Autoria própria.

Os voluntários permaneceram por 30 minutos para aclimação sob condições previamente padronizadas de temperatura ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e umidade relativa ( $60\pm 5\%$ ) do ambiente, antes do início dos experimentos.

a) Avaliação da hidratação das camadas superficiais da pele: A análise do conteúdo hídrico das camadas do estrato córneo foi realizada pelo método da capacitância utilizando um Corneometer<sup>®</sup> CM 825 (Courage + Khazaka, Alemanha). Foram realizadas nove leituras em cada campo, antes (basal) e 1, 2, 3, 4 e 5 horas após uma única aplicação das formulações nos campos C2, C3 e C4 e também no campo C1 (onde não se aplicou amostras).

b) Avaliação da perda de água transepidermal e função barreira da pele: As análises da TEWL e função barreira da pele foram realizadas utilizando o equipamento Tewameter<sup>®</sup> TM300 (Courage + Khazaka, Alemanha). Os valores da TEWL foram registrados por 120s em cada região demarcada, onde os 30 segundos iniciais foram desprezados em termos da análise estatística, pois se refere ao período de estabilização e equilíbrio da sonda sobre a pele. As leituras foram realizadas antes (basal) e 1, 2, 3, 4 e 5 horas após uma única aplicação das formulações nos campos C2, C3 e C4 e também no campo C1 (onde não se aplicou amostras).

c) Análises estatísticas: os resultados experimentais foram submetidos à análise de normalidade da distribuição amostral e avaliados através do teste paramétrico da Análise de Variância (ANOVA) e, complementarmente, através dos pós-teste de Tukey e Bonferroni, com significância estatística  $p < 0,05$ . Foram avaliados pelo programa *GraphPad Prism 5*.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *K. brasiliensis*

Após a liofilização o extrato hidroetanólico 50% (HE 50%) das folhas de *K. brasiliensis* obtido apresentou-se como um pó homogêneo de coloração amarelo claro, odor característico, higroscópico, com rendimento de 2,0%.

O método de extração utilizado para o preparo do extrato em estudo foi padronizado por Matos (2009) que também estudou e validou àquele no qual se obteve o maior teor de flavonoides totais das folhas de *K. brasiliensis*. Esse método foi utilizado porque os nossos colaboradores responsáveis pela obtenção do extrato, Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais Bioativos – PNBio, trabalharam com o mesmo extrato na perspectiva de isolar flavonoides da *K. brasiliensis*. É importante destacar que a matéria-prima vegetal utilizada para a obtenção do extrato foram as folhas frescas (*in natura*), assim, não sendo submetidas a nenhum processo de secagem prévia. Dessa forma, o elevado teor de água das folhas da espécie, pode estar associado ao baixo rendimento do extrato liofilizado. Fernandes (2015), após análises cromatográficas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) do extrato HE 50% das folhas de *K. brasiliensis*, sugeriu a presença de compostos fenólicos e flavonoides, especialmente glicosilados.

Comparando os extratos, da espécie vegetal *Aloe arborescens*, obtidos por meio de exsudatos e por solução aquosa, observou-se que o rendimento da matéria seca do primeiro método foi maior, no entanto, as concentrações dos metabólitos foram inferiores quando comparado ao segundo método, no qual o rendimento foi mais baixo. Os autores concluíram que os extratos obtidos pelo método com a solução aquosa foram mais eficientes na extração dos metabólitos que estavam objetivando obter (GUTTERMAN; CHAUSER-VOLFSON, 2008). Além das condições de extração, fatores como o tipo de solvente, temperatura, e tempo de exposição, podem ser modulados durante a produção, alterando quali e quantitativamente os compostos obtidos e aumentando ou reduzindo o rendimento (JING; GIUSTI, 2007).

Devido à facilidade de incorporação usualmente a indústria cosmética utiliza extratos vegetais hidroglicólico em formulações. No presente estudo, foi desenvolvido um produto cosmético com o extrato HE 50% de *K. brasiliensis* liofilizado, uma vez que apresenta maior estabilidade química e microbiológica durante o armazenamento. No entanto, para a incorporação do mesmo nas formulações deve ser precedida do estudo de solubilidade.

Para os testes de solubilidade, o extrato HE 50% das folhas de *K. brasiliensis* foi avaliado nas concentrações de 1,0%, 5,0% e 10,0% em propilenoglicol (p/v), solução hidroalcoólica 5,0% (p/v) e em água destilada (p/v). No teste com propilenoglicol a concentração de 1,0% (p/v) do extrato não se solubilizou completamente, apresentando um precipitado. Na solução hidroalcoólica a 5,0%, mesmo com agitação, houve a formação de precipitado, embora em menor quantidade quando comparado ao propilenoglicol. No teste com água destilada, a concentração de 1,0% (p/v) foi totalmente solúvel e, após a centrifugação a 3000rpm por 30 minutos, não houve aparecimento de precipitado. Na concentração de 5,0%, foi excedida a solubilidade do extrato em água destilada, ocorrendo a presença de precipitados.

Maisuthisakul e Harnsilawat (2011) avaliaram a solubilidade do extrato de semente da *Mangifera indica* frente a três solventes diferentes e relataram que este foi mais solúvel em glicerol do que em água e óleo, presumindo que a solubilidade do extrato está relacionada à sua polaridade.

Segundo Brasil (2010) a solubilidade de substância pura em dado solvente à temperatura constante, é parâmetro característico da substância, podendo servir para fins de identificação e avaliação do grau de pureza. Assim, o teste de solubilidade realizado de acordo com a padronização dessa pesquisa, nos permite sugerir o perfil característico de solubilidade aquosa do extrato HE 50% de *K. brasiliensis*, visto o pouco referencial teórico para essa espécie.

O potencial hidrogeniônico é um dos fatores físico-químicos que pode interferir na solubilidade de uma substância (AVDEEF; BERGER; BROWNELL, 1999; TOMOTAKE et al., 2002). Para formulações cosméticas, cuja estabilidade e eficácia do ativo não são dependentes do valor do pH, o ideal é que as formulações tenham este valor o mais próximo possível do cutâneo (ALGIN YAPAR et al.; 2013).

A solução aquosa com 1,0% do extrato HE 50% apresentou valor de pH em torno de 4,0. Assim foi realizado o teste de solubilidade nos valores de pH entre 4,0 e 7,0, apresentando como resultado a completa solubilidade do extrato na faixa de pH estudada.

Dessa forma, pode-se justificar a adição de até 1,0% do extrato HE 50% de *K. brasiliensis* na fase aquosa da formulação, visto que possui solubilidade em água destilada na faixa de valor de pH estudada. No entanto optou-se pela concentração de 0,5% do extrato hidroetanólico para o estudo do desenvolvimento das formulações.

A concentração de 0,5% foi escolhida fundamentada no estudo de Damasceno (2014) que estudou a incorporação de extrato seco em formulações com Sepigel e obteve estabilidade da emulsão até 0,3% (p/p) e, na pesquisa de Dal’Belo e colaboradores (2006) que utilizaram 0,5% de extrato para desenvolverem formulações cosméticas com extrato seco de *Aloe vera*.

Dentre os ensaios físico-químicos recomendados para determinação de uma ou mais características de um produto, processo ou serviço, se enquadram a determinação de materiais voláteis e resíduo seco e a determinação do teor de água/umidade (BRASIL, 2008).

O teor de umidade e o resíduo seco foram determinados em balança de infravermelho, calculando-se também a relação entre o peso inicial e o resíduo seco. A massa inicial de 1,005g de extrato HE 50% de *K. brasiliensis* foi adicionada em balança analítica de analisador de umidade, verificando-se, decorrido o tempo de análise (1 minuto), os seguintes resultados foram obtidos: massa final da amostra: 0,926g; umidade: 7,84%; resíduo seco: 92,16% e a relação peso inicial x resíduo seco: 108,51%.

O material denominado resíduo seco revela a massa dos componentes da formulação que volatilizam ou não nas condições determinadas, expresso pela diferença entre a massa da amostra, antes ou depois da secagem (BRASIL, 2008). Em pesquisa que avaliou o extrato seco por nebulização de *Cynara scolymus* L. frente à umidade por determinação da perda por dessecação, verificou-se que o valor foi de 7,34%, estando este, de acordo com os autores, dentro dos valores estabelecidos pelos órgãos fiscais, sendo indicativo de boa conservação e eficiência

no processo de secagem (COSTA et al., 2009). Segundo Mendez e colaboradores (2011), após avaliação de extrato seco de *Passiflora alata* Curtis frente ao conteúdo de umidade, foi observado que seu valor de umidade residual era 7,43% (p/p), considerado elevado, pois mesmo com a presença dos adjuvantes aerosil e fosfato de cálcio, não houve diminuição da higroscopicidade, mas os autores justificaram esse resultado pelo fato da presença característica de açúcares no extrato vegetal. Desse modo, pode-se sugerir que o resultado encontrado por Costa e colaboradores (2009) e Mendez e colaboradores (2011) sejam semelhantes, aos obtidos no presente estudo. Estes resultados podem servir de parâmetros para o controle de qualidade do extrato hidroetanólico de folhas de *K. brasiliensis*, visto a ausência de uma monografia específica para a espécie em compêndios oficiais.

É sabido que açúcares, proteínas e polifenóis são utilizados frequentemente na composição de produtos cosméticos com o objetivo de obter atividades hidratantes, antioxidante e antienvhecimento (BONTÉ, 2011; LIU et al., 2015; TROMMER; NEUBERT, 2005; ZILLICH et al., 2015). Apesar de descrito na literatura a presença desses componentes na composição química da *K. brasiliensis* o método de produção do extrato pode alterar quali e quantitativamente a presença dos mesmos na composição do extrato obtido. Assim foi realizada uma avaliação quantitativa do extrato em estudo com o objetivo de verificar a presença de açúcares totais, proteínas e compostos fenólicos (Tabela 2).

**Tabela 2** – Resultados das dosagens de açúcares totais, proteínas e compostos fenólicos.

	Açúcares totais (%)	Proteínas (%)	Compostos fenólicos (%)
Extrato <i>K. brasiliensis</i>	14,61 ± 0,35	0,12 ± 0,05	4,60 ± 0,07

Os resultados foram apresentados em média percentual com o desvio padrão.

Negreiros (2015) avaliou extratos de polissacarídeos extraídos de diferentes algas (*Spatoglossum schröderi*, *Dictyopteris justii*, *Sargassum filipendula* e *Dictyota mertensii*) e obteve uma variação na concentração de açúcares totais entre

39,00%  $\pm$  0,8 e 62,2%  $\pm$  1,9. Pelo resultado demonstrado na Tabela 2 observa-se que a concentração obtida no extrato da *K. brasiliensis* está bem abaixo da encontrada no referido estudo. Além da variação da concentração dos metabólitos entre as espécies vegetais, o método de extração pode ter interferido na concentração de açúcares.

Nessa mesma pesquisa, Negreiros (2015) também determinou a concentração de proteínas (entre 0,14  $\pm$  0,01 e 0,46  $\pm$  0,01) e compostos fenólicos (entre 0,30  $\pm$  0,13 e 2,60  $\pm$  0,02) e considerou uma concentração baixa por ter utilizado metodologia para retirada de contaminantes, como por exemplo, proteólise. Comparando com os resultados obtidos para o extrato de *K. brasiliensis*, observa-se que a concentração de proteínas está compatível, no entanto a presença de compostos fenólicos é mais expressiva, o que pode ser justificado pelo método de extração utilizado no preparo do extrato em estudo. El-Rafie, El-Rafie e Zahran (2013) também avaliaram a concentração de proteínas em extratos de algas (*Pterocladia capillacea*, *Jania rubins*, *Ulva faciata*, e *Colpomenia sinusa*), sem utilizar o método de retirada de contaminantes utilizado por Negreiros (2015) e obtiveram concentrações mais expressivas variando entre 3,2% a 5,3%.

## 5.2 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

O Novemer™ EC-2 é uma matéria-prima multifuncional (*blend*) de derivado de acrilato composto por três componentes que correspondem, respectivamente, a um polímero doador de consistência, emoliente e um agente tensoativo estabilizante, com funções espessante, estabilizante e emulsionante e que proporcionam a formação de emulsão pelo processo a frio, dispensando o estudo prévio do equilíbrio hidrófilo lipófilo. Apresenta-se fisicamente como um líquido branco, opaco, contendo sólidos brancos de polímero de aproximadamente 20% de peso. De acordo com a literatura, a concentração recomendada de uso varia entre 1,0% e 6,0% (NOVEMER™ EC-2, 2011). Foram então escolhidas as concentrações de 2,0% (NV2), 3,0% (NV3), 4,0% (NV4) e 5,0% (NV5) para o presente estudo (Tabela 1).

A dispersão do polímero em estudo foi realizada após a formação do gel de Carbopol® Ultrez-20, por processo a frio, pois como sugerido pela literatura, esse

polímero promove um sinergismo no sentido de garantir a viscosidade, resistência de eletrólitos e sensorial da formulação (NOVEMER™ EC-2, 2011). A resistência do sistema à eletrólitos é fundamental, pois é comum a presença desses em extratos hidroetanólicos secos, como o utilizado no desenvolvimento das formulações em estudo.

As emulsões formuladas com o Novemer™ EC-2 foram completamente miscíveis em água após o teste de diluição, indicando a formação de emulsões do tipo O/A. Essa característica também foi confirmada pelos valores elevados de condutividade elétrica (Tabela 3). Para fins de comparação, a condutividade elétrica da água recém-destilada foi  $1,71\mu\text{S}/\text{cm}$  ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ) e a condutividade elétrica da solução aquosa com 0,5% de extrato de *K. brasiliensis* foi  $1.806,0\mu\text{S}/\text{cm}$  ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ), demonstrando o aumento observado nos valores da condutividade elétrica em relação as formulações manipuladas (na escala mS/cm).

As formulações sem adição do extrato apresentaram-se homogêneas, com aspecto de creme, coloração branca, odor característico e macroscopicamente estáveis. Não foram observados quaisquer fenômenos de instabilidade por meio da análise macroscópica das emulsões estudadas após 24 horas da manipulação. Os geis com extrato apresentaram coloração amarelo-claro, odor característico, aspecto de creme e macroscopicamente estáveis (Figura 3).

**Figura 3** - Aspecto da formulação contendo 3,0% do Novemer™ EC-2 e 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* após 24 horas da manipulação.



**Fonte:** Autoria própria



Na Tabela 3 é possível observar que a viscosidade foi dependente da concentração do Novemer™ EC-2, ou seja, o aumento desse constituinte proporcionou o incremento da viscosidade conforme relatado pelo fornecedor (NOVEMER™ EC-2, 2011). Nessa mesma tabela também é possível verificar que a adição de 0,5% do extrato hidroetanólico de *K. brasiliensis* promoveu a diminuição da viscosidade das formulações. Após a incorporação do extrato, na formulação com 2,0% de Novemer™ EC-2, a viscosidade aparente diminuiu em aproximadamente 84% enquanto que para aquela composta de 5,0% do mesmo polímero a redução foi de 26%.

Archondo (2003) *apud* Isaac e colaboradores (2008) relataram que extratos vegetais, quando incorporados em formulações cosméticas podem alterar a forma cosmética e o comportamento reológico da preparação. Verificou-se também que as formulações desenvolvidas em nosso trabalho apresentaram viscosidade aparente mínima abaixo dos valores previstos pelo fabricante (NOVEMER™ EC-2, 2011), podendo esta alteração estar relacionada à composição da formulação, valor do pH e metodologia da análise utilizada.

Foram utilizados testes e parâmetros sugeridos pelo Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA, 2004) e literaturas de autores que também trabalharam com formulações semissólidas (DAMASCENO, 2014; FERRARI, 1998; 2002; LIMA et al., 2008; PIANOVSKI et al., 2008).

Os estudos de estabilidade preliminar são testes de triagem, realizados nas etapas iniciais de desenvolvimento de produtos cosméticos para auxiliar o formulador a escolher as melhores formulações, e não para estimar a vida útil do produto, pois essa estabilidade é relativa, variando com o tempo e em função de fatores que aceleram ou retardam alterações nos parâmetros do produto (ANVISA, 2004; BABY et al., 2008).

A centrifugação é um teste preliminar que utiliza a força gravitacional para acelerar os processos de cremação e sedimentação (TADROS, 2004) e foi realizado após 24 horas de preparo das formulações. Nenhuma formulação apresentou sinais de instabilidade e de separação de fases. Mesmo a formulação que se apresentou com aspecto mais fluído (NV2) (Tabela 3) não separou as fases

**Tabela 3** - Testes de estabilidade preliminar das emulsões em estudo contendo ou não 0,5% de extrato hidroetanólico de folhas de *Kalanchoe brasiliensis*.

Parâmetros avaliativos	NV2(%) p/p	NV2.v(%) p/p	NV3(%) p/p	NV3.v(%) p/p	NV4(%) p/p	NV4.v(%) p/p	NV5(%) p/p	NV5.v(%) p/p
<b>Tempo Inicial (24 horas)</b>								
Centrifugação	N	N	N	N	N	N	N	N
Valor do pH	5,96±0,04	6,89±0,03	6,57±0,06	7,27±0,05	6,82±0,02	7,44±0,12	6,91±0,03	7,40±0,02
Condutividade elétrica (mS/cm)	3,58±0,50	2,43±0,09	5,10±0,32	3,32±0,06	6,08±0,09	4,11±0,06	6,99±0,29	5,30±0,18
Viscosidade aparente (cP)	2.715±702	17.885±1.448	12.413±821	22.688±148	17.521±396	25.161±1.303	20.472±1.533	27.745±388
<b>Pós-Estresse Térmico</b>								
Valor do pH	5,91± 0,06	6,86±0,04	6,63±0,13	7,27±0,06	6,73±0,08	7,46±0,06	6,95±0,03	7,48±0,03
Condutividade elétrica (mS/cm)	4,51 ± 0,10	2,81±0,20	5,46±0,40	3,40±0,25	6,90±0,20*	4,95±0,12*	7,06±0,06	5,20±0,10
Viscosidade aparente (cP)	3.399±1.196*	18.214±1.139*	12.997±2.635	21.199±926*	17.720±1.910	26.259±452	21.269±1.046	29.526±1.598
<b>Pós-ciclo Gela Degela</b>								
Valor do pH	5,94±0,05	6,93±0,005	6,56±0,049	7,26±0,08	6,79±0,03*	7,4±0,04	6,93±0,04	7,46±0,005
Condutividade elétrica (mS/cm)	3,95±0,40*	2,67±0,10*	5,68±0,29*	3,61±0,06*	6,68±0,19*	4,67±0,01*	6,47±0,08*	4,83±0,10*
Viscosidade aparente (cP)	2.796±1.349*	16.771±585*	12.321±364	20.950±732*	16.352±964	24.139±2.248	20.123±1.139	28.803±1.332

**Onde:** \*p < 0,05 comparado com tempo inicial. Dados foram expressos como média ± desvio padrão. n=9. **Legenda:** **N** = Normal; **NV2** = formulação com 2,0% de Novemer™ EC-2; **NV2.v** = veículo correspondente a formulação NV2; **NV3** = formulação com 3,0% de Novemer™ EC-2; **NV3.v** = veículo correspondente a formulação NV3; **NV4** = formulação com 4,0% de Novemer™ EC-2; **NV4.v** = veículo correspondente a formulação NV4; **NV5** = formulação com 5,0% de Novemer™ EC-2; **NV5.v** = veículo correspondente a formulação NV5.

após a centrifugação, indicando de acordo com Velascos e colaboradores (2008) que o sistema apresentou viscosidade para manter sua integridade.

As formulações estáveis ao teste de centrifugação foram submetidas às outras condições de tensão por meio dos métodos de estresse térmico (ET) e ciclo gela-degela (CGD) (Tabela 3).

Após o teste de estresse térmico observou-se que a homogeneidade e as características organolépticas de todas as formulações mantiveram-se como os parâmetros iniciais, e aquelas contendo o extrato apresentou coloração característica (Figura 4 e Tabela 3).

**Figura 4** - Aspecto da coloração da formulação contendo 3,0% do Novemer™ EC-2 e 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* após estresse térmico.



**Fonte:** Autoria própria.

O pH é um parâmetro que possibilita avaliar modificações químicas dos componentes presentes na formulação (FERRARI, 2002). Pode-se observar (Tabela 3) que o valor do pH foi crescente em relação ao aumento da concentração do Novemer™ EC-2 e esse perfil se manteve após os testes de ET e CGD. Resultados semelhantes foram obtidos por Damasceno (2014) que também trabalhou com um *blend* para obtenção de emulsões. No entanto, no corrente estudo, nenhuma formulação apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos valores de pH após os testes de ET e CGD comparados aos valores iniciais (Tabela 3) configurando estabilidade das formulações nesse parâmetro.

A determinação da condutividade elétrica é um procedimento muito utilizado no desenvolvimento de formulações para acompanhamento da estabilidade e

determinar o tipo das mesmas (ONTIVEROS et al., 2015; TADROS, 2004). Contudo, afirma-se que não há relação linear entre aumento da condutividade elétrica e aparecimento de processos de instabilidade tornando difícil, por esse parâmetro, avaliar a velocidade das reações que alteram a estabilidade dos sistemas (MASMOUDI et al., 2005).

Excetuando as formulações NV4 e NV4.v que apresentaram diferenças estatísticas nos valores de condutividade elétrica após os testes de ET e CGD, as demais variaram apenas após o CGD (Tabela 3). Os valores elevados da condutividade elétrica confirmaram o teste de diluição, assegurando o caráter O/A.

O aumento da concentração de eletrólitos em uma formulação pode provocar a condensação desses nas interfaces e promover a instabilidade do sistema. Algumas pesquisas demonstraram que a adição de sais a sistemas emulsionados acarretou redução da temperatura de inversão de fases (PIT), o que pode alterar a natureza da emulsão, e também reduzir o potencial zeta (valor absoluto), propiciando processos de instabilidade do sistema (JIANG et al., 2013; KUNDU et al., 2013; MISHRA; PANDIT, 1989). Geralmente, a redução desse valor absoluto no potencial zeta é acompanhada de aumento do diâmetro de gotícula da amostra, e conseqüentemente, as cargas de superfície das gotículas estando reduzidas diminuem a repulsão eletrostática entre as mesmas, induzindo a coalescência (KUNDU et al., 2013).

A viscosidade é um dos parâmetros que caracteriza reologicamente o sistema e contribui para determinar e prever a estabilidade física das formulações (ANVISA, 2004; TADROS, 2004). É um método muito utilizado em estudos de estabilidade por ser simples e eficaz na comparação (MAISUTHISAKUL; HARNSILAWAT, 2011).

As emulsões NV2.v e NV3.v (veículos) apresentaram variações estatísticas significantes nos valores de viscosidade após o estresse térmico e ciclo gela-degela. Isto pode indicar que o umectante presente nessas formulações não foi capaz de reter água no produto (CORREA et al., 2005). As demais formulações, com destaque aquelas que contêm o extrato em estudo permaneceram sem alterações nesse parâmetro confirmando a estabilidade das mesmas (Tabela 3).

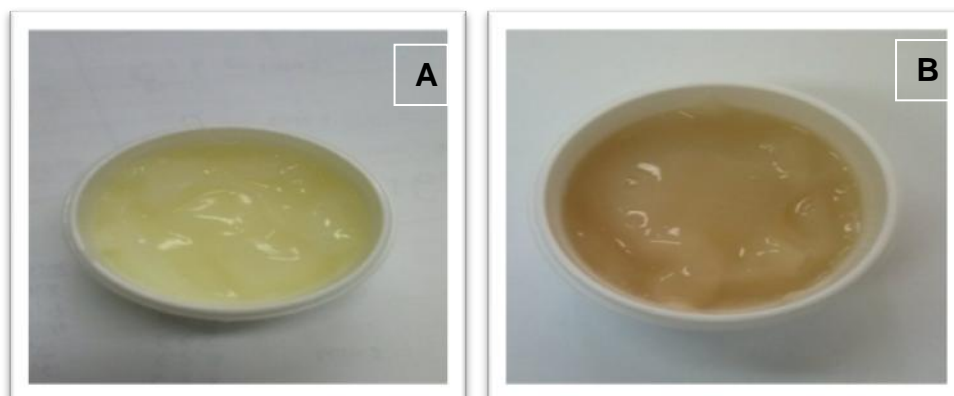
Vale destacar a redução da viscosidade das formulações com o extrato em relação a suas correspondentes (veículos), justificada, segundo Tadros (2015), pela

redução da solvência de cadeias poliméricas após adição de eletrólitos, sendo neste caso, uma redução da espessura da camada adsorvida, resultando na diminuição do valor de viscosidade.

Ao avaliar conjuntamente os parâmetros utilizados na avaliação das formulações submetidas aos testes preliminares, todas as formulações foram consideradas estáveis. No entanto, foram selecionadas as formulações contendo 3,0% e 4,0% de Novemer™ EC-2 (NV3, NV3.v, NV4 e NV4.v) para serem submetidas aos testes de estabilidade acelerada. A escolha se justifica pelas formulações NV2, NV2.v, NV5 e NV5.v terem limites mínimo e máximo, respectivamente, dos pontos de leitura da viscosidade mínima aparente, somado ao fato da primeira (NV2.v) ter apresentado característica muito fluida após adição de 0,5% do extrato.

Após 90 dias de estocagem nas diferentes temperaturas propostas para os testes de estabilidade acelerada foi observado que as formulações sem o extrato mantiveram a coloração branca, odor característico e aspecto creme (Tabela 4). No entanto, houve alteração da cor das formulações com extrato (Figuras 5A e 5B) submetidas a  $25\pm 2$  e  $45\pm 2^\circ\text{C}$ , especialmente nesta última. Em contrapartida, as formulações mantidas a  $4\pm 2^\circ\text{C}$  mantiveram cor e odor semelhantes ao inicial.

**Figura 5** – Aspecto da coloração das formulações contendo 3,0% do Novemer™ EC-2 e 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* acondicionadas em frascos de polietileno.



**Onde:** (A) Emulsão contendo 0,5% do extrato em estudo após 24 horas de preparo; (B) Emulsão contendo 0,5% do extrato em estudo após 90 dias de estocagem a  $45\pm 2^\circ\text{C}$  e 75±2% UR.

**Tabela 4** - Testes de estabilidade acelerada das emulsões em estudo contendo ou não 0,5% de extrato hidroetanólico de folhas *K. brasiliensis*.

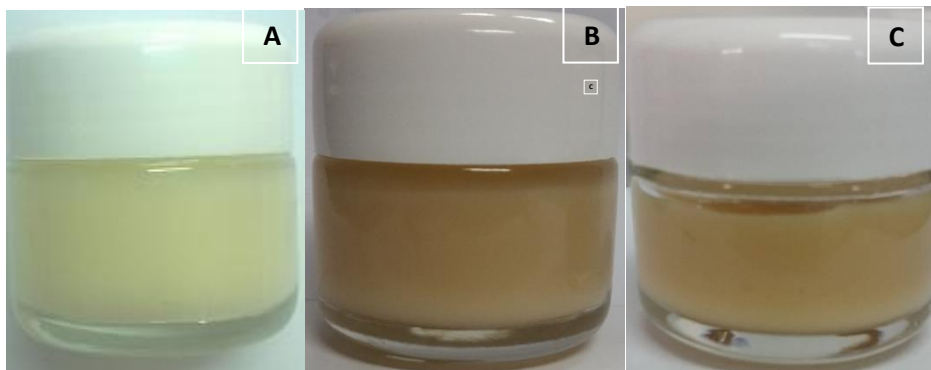
		Características macroscópicas	Característica Organoléptica		pH	Viscosidade mínima aparente (cP)	Índice de fluxo	Índice de consistência (cP)	Área de histerese	
			Cor	Odor						
<b>NV3</b>	Após 24 hs	N	N	N	6,36±0,12	9.774±680	0,23±0,02	38.266±3.396	6,38 ± 3,94	
	90° dia	4°C	N	N	6,70±0,09*	11.339±236	0,23±0,010	39.925±15.227	-0,49 ± 25,25	
		25°C	N	LM	N	6,35±0,22	11.380±1.111	0,24±0,02	44.035±5.985	18,73 ± 17,10
		45°C	N	LM	N	6,58±0,11*	8.620±1.094*	0,24±0,02	33.632±5.289	37,47 ± 11,34
<b>NV3.v</b>	Após 24 hs	N	N	N	7,02±0,10	20.791±554	0,19±0,02	87.295±5.433	-47,17 ± 26,14	
	90° dia	4°C	N	N	7,68±0,13*	22.980±392	0,19±0,01	96.965±9.761	-36,93 ± 42,19	
		25°C	N	N	N	7,39±0,25*	22.764±1.089	0,19±0,01	95.455±5.269	35,16 ± 33,51
		45°C	N	N	N	7,63±0,11*	20.236±1.363*	0,18±0,07	73.848±28.406	51,21 ± 15,21
<b>NV4</b>	Após 24 hs	N	N	N	6,83±0,09	15.139±524*	0,22±0,01	61.099±2.674	4,73 ± 8,93	
	90° dia	4°C	N	N	6,74±0,05*	16.305±1.032	0,28±0,02	64.517±5.435	8,04 ± 14,29	
		25°C	N	LM	N	6,82±0,07*	17.337±1.548	0,21±0,01	70.350±7.554	37,80 ± 11,66
		45°C	N	LM	N	6,80±0,07	12.163±1.939*	0,25±0,01	46.428±7.984	42,98 ± 18,29
<b>NV4.v</b>	Após 24 hs	N	N	N	7,33±0,05	24.881±2.091	0,19±0,17	105.152±9.103	-48,06 ± 16,41	
	90° dia	4°C	N	N	7,66±0,09*	26.653±889*	0,17±0,06	100.450±37.847	-42,43 ± 14,44	
		25°C	N	N	N	7,68±0,08*	24.980±2.154	0,21±0,02	102.895±7.886	3,52 ± 34,56
		45°C	N	N	N	7,17±0,06*	23.077±1.165*	0,21±0,01	94.244±5.743	46,06 ± 14,55

**Onde:** \*p < 0,05 comparado com tempo inicial. Dados foram expressos como média ± desvio padrão. n=9. **Legenda:** **N** = Normal; **LM** = Levemente modificado; **NV3** = formulação com 3,0% de Novemer™ EC-2; **NV3.v** = veículo correspondente a formulação NV3; **NV4** = formulação com 4,0% de Novemer™ EC-2; **NV4.v** = veículo correspondente a formulação NV4.

Há relatos na literatura que variações de cor e odor em geral não devem ser consideradas significativas para formulações fitoterápicas, uma vez que temperaturas elevadas podem interferir nas características organolépticas de formulações semissólidas, havendo necessidade de orientação ao usuário quanto à temperatura e local de acondicionamento adequado (SINGH et al., 2008). Presume-se que o mesmo pode acontecer para formulações cosméticas.

Além disso, segundo Rechia (2010), a embalagem plástica – polietileno de baixa densidade – é permeável ao oxigênio e a luz, dessa forma podendo ocasionar os processos de oxidação e/ou hidrólise. Diante dessa afirmativa, realizou-se a análise de estocagem modificando a embalagem de polietileno por vidro e foi observado que após 90 dias também ocorreram alterações de cor conforme ilustrado na Figura 6.

**Figura 6** - Aspecto da coloração das formulações contendo 3,0% do Novemer™ EC-2 e 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* acondicionadas em frascos de vidro.



**Onde:** (A) Emulsão contendo 0,5% do extrato em estudo após 24 horas de preparo; (B) Emulsão contendo 0,5% do extrato em estudo após 90 dias de preparo à  $25\pm 2^\circ\text{C}$ ; (C) Emulsão contendo 0,5% do extrato em estudo após 90 dias de preparo à  $45\pm 2^\circ\text{C}$ .

Sabe-se que flavonoides são compostos com solubilidade em água e sensíveis à presença de radiação ultravioleta, íons metálicos, temperaturas elevadas e à hidrólise, sendo a adição de agente quelantes associados a um agente antioxidante como o Butilhidroxitolueno (BHT) uma das alternativas, para a prevenção da degradação de flavonoides. Além disso, contendo essas substâncias

ativas naturais não devem ser estocadas em elevadas temperaturas (BABY et al., 2007; FRIEDMAN; JURGENS, 2000). Assim para a formulação desenvolvida é conveniente recomendar que a composição contenha componentes antioxidantes e/ou filtros solares para proteger os componentes fotossensíveis, seja armazenada ao abrigo da luz ou, acondicionadas em embalagem opacas e/ou que contenham filtros solares na estrutura e, ainda, em temperaturas amenas.

Em produtos cosméticos disponíveis no mercado que contenham em sua composição componentes com alto potencial oxidativo, como por exemplo o ácido ascórbico, e/ou extratos vegetais, devem apresentar no rótulo, advertência ao consumidor, que o produto poderá sofrer alteração de cor sem interferir na eficácia. Na pesquisa em tela, é fato que ocorreu a alteração de cor, no entanto foi comprovado que essa modificação macroscópica, realmente não interferiu na eficácia (resultados demonstrados adiante). Em relação aos valores de pH, decorridos os 90 dias (Tabela 4) apenas as formulações NV3 e NV4 nas temperaturas de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  e  $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ , respectivamente, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação ao tempo inicial. No entanto, os valores de pH das formulações permaneceram entre 6,35 e 6,83, o que é considerado aceitável para evitar o risco de irritação da pele (ALGIN YAPAR et al., 2013).

Mahmood e Akhtar (2013) relataram que formulações contendo extrato vegetal de chá verde, armazenadas a  $40^{\circ}\text{C}$ , apresentaram variação de valor de pH devido à degradação dos compostos, como resultado de reações de hidrólise e/ou oxidação de componentes da preparação que comumente ocorre nos estudos de estabilidade acelerada. De acordo com outras pesquisas científicas variação do valor de pH pode ocasionar processo oxidativo e formação de produtos de oxidação. Contudo, devido às propriedades antioxidantes, os polifenóis podem aumentar a estabilidade oxidativa e a estabilidade de armazenamento de emulsões (ALGIN YAPAR et al., 2013; DI MATTIA et al., 2010; MAHMOOD; AKHTAR, 2013).

A reologia, especialmente os estudos dos parâmetros como, viscosidade mínima aparente, índices de fluxo e de consistência e determinação da área de histerese são de extrema importância na avaliação da estabilidade de um produto (TADROS, 2004).



Ao observar os valores de viscosidade após 24 horas de preparo (Tabela 4), verifica-se diminuição desse parâmetro comparando os valores das formulações adicionadas de extrato, NV3 e NV4, em relação aos seus respectivos veículos (NV3.v e NV4.v). A formulação com 3,0% de Novemer™ EC-2 reduziu os valores da viscosidade em aproximadamente 50%, enquanto com 4,0% do Novemer™ EC-2 a redução foi de aproximadamente 40% com a incorporação do extrato na formulação. Contudo, além da presença dos eletrólitos, a interação dos compostos fenólicos com o emulsificante da formulação pode alterar a viscosidade (MAISUTHISAKUL; HARNSILAWAT, 2011; TADROS, 2015; ZILLICH et al., 2015). De forma semelhante aos resultados apresentados no presente estudo, Algin-Yapar e colaboradores (2013) também relataram redução da viscosidade quando incorporaram o extrato vegetal nas formulações que mantiveram-se estáveis.

As formulações NV3 e NV4, após 90 dias de estocagem não apresentaram alterações estatisticamente significantes nos valores da viscosidade mínima aparente, exceto as armazenadas a  $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ , podendo as mesmas serem consideradas estáveis quanto a esse parâmetro. No entanto, as formulações (sem extrato) NV3.v na temperatura de  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ , e a NV4.v nas três temperaturas ( $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  e  $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), apresentaram valores de viscosidade estatisticamente significantes, mas, mantiveram os aspectos organolépticos e valor de pH em conformidade. Portanto, pode-se considerar essas formulações estáveis e inferir que a adição do extrato promoveu melhor estabilidade as formulações quanto a esse parâmetro.

Os valores de índice de fluxo e de consistência foram calculados por meio do modelo matemático de Power Law. A análise do índice de fluxo (Tabela 4) indica que, todas as formulações apresentaram-se como fluídos não-newtonianos com índice de fluxo menor que 1, caracterizando o comportamento pseudoplástico (TADROS, 2004). Oliveira e colaboradores (2014) também avaliaram o comportamento reológico de formulações cosméticas de sistemas líquido cristalinos com ou sem palmitato de retinol, e calcularam o índice de fluxo por meio do modelo matemático de Power Law. Os autores atribuíram o perfil pseudoplástico as formulações pelo índice de fluxo apresentar-se abaixo de 1.

Sabe-se que em formulações que contêm polímeros é frequente se observar o comportamento pseudoplástico (YASAR; TOGRUL; ARSLAN, 2007). Lima e colaboradores (2008) desenvolveram formulações contendo *Carbomer* (Carbopol® Ultrez 10) e também obtiveram formulações com esse tipo de comportamento. Esse perfil não-newtoniano é desejável em cosméticos, pois facilita a aplicação dos produtos (GUARATINI; GIANETI; MAIA CAMPOS, 2006).

Ao analisar os resultados dos valores do índice de consistência (Tabela 4), observa-se que as formulações após 24 horas de preparo mantiveram o perfil da viscosidade mínima aparente, ou seja, aumentaram a consistência dependente da concentração do Novemer™ EC-2 e, após a adição do extrato apresentaram valores diminuídos do índice de consistência.

Após 90 dias de estocagem, as formulações mantidas à temperatura de  $45\pm 2^{\circ}\text{C}$  reduziram o índice de consistência comparado aos valores iniciais. A mesma situação ocorreu com a viscosidade mínima aparente após 24 horas de preparo. As formulações expostas a temperaturas mantidas a  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  e  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  aumentaram os valores de índices de consistência dependente da concentração do Novemer™ EC-2. Di Giuseppe e colaboradores (2015) observaram que a  $40^{\circ}\text{C}$  o Carbopol® Ultrez 10 e Ultrez 21, com concentrações 0,1%, foram sensíveis a variações de temperatura, exibindo diminuição da viscosidade. Pode-se assim correlacionar esses resultados com o comportamento intrínseco do Carbopol® Ultrez 20, usado no presente trabalho.

Em uma pesquisa desenvolvida por Gonzalez e colaboradores (2015), observaram que após a adição do ativo houve diminuição no índice de consistência, resultados semelhantes aos obtidos na presente pesquisa. Esses autores também relataram que na ausência do ativo, a formulação apresentava perfil pseudoplástico e após a adição pela análise do índice de fluxo, o comportamento da formulação alterou para Newtoniano. Nos resultados apresentados na Tabela 3, é possível observar que mesmo com a adição do extrato vegetal as formulações mantiveram o perfil pseudoplástico.

Observando os valores da área de histerese (Tabela 4) pode-se concluir que as formulações apresentam tixotropia, característica desejável para produtos cosméticos (TADROS, 2004). No entanto observa-se que em algumas temperaturas

as formulações apresentaram valores negativos caracterizando a anti-tixotropia. Esse evento pode ocorrer devido à uma agregação temporária da amostra, falta de homogeneidade no preparo das emulsões ou mesmo um efeito de pré-cisalhamento antes da leitura no reômetro (DUTSCHK et al., 2012; TADROS, 2004).

Uma vez que os resultados de índices de consistência e de fluxo e área de histerese foram calculados por meio de modelos matemáticos, não foram considerados como critérios de estabilidade, e sim de caracterização (DAMASCENO, 2014).

Assim, analisando todos os parâmetros de avaliação estabelecidos para os estudos de estabilidade acelerada, as formulações aditivadas (NV3, NV4) ou não (NV3.v, NV4.v) com 0,5% de extrato de *K. brasiliensis* foram consideradas estáveis. No entanto as formulações NV3 e NV3.v, apresentaram resultados estatisticamente melhores, sendo eleitas para serem avaliadas quanto à eficácia clínica hidratante.

### 5.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA DA EFICÁCIA HIDRATANTE, PERDA DE ÁGUA TRANSEPIDERMAL E FUNÇÃO BARREIRA

A avaliação clínica da eficácia de um produto contempla parte da cadeia produtiva do mesmo. Assim essa pesquisa teve como objetivo não só desenvolver o produto hidratante, mas também avaliar se realmente o extrato em estudo tem atividade cosmética.

Outro intuito dessa pesquisa foi desenvolver um produto estável, com eficácia comprovada e com viabilidade comercial. Esse é mais um motivo que justifica o uso da concentração de 0,5% (p/p) do extrato hidroetanólico de *K. brasiliensis*, já que é uma concentração usual da indústria cosmética em produtos comerciais.

Após responderem um questionário sobre os dados pessoais e avaliados os fatores inclusão e/ou exclusão, foram selecionados 18 voluntários (DARLENSKI; FLUHR, 2011), de ambos os sexos, com idades entre 18-50 anos (idade média de 34 anos).

Pode-se observar (Tabela 5) que a maioria dos voluntários apresentou valores médios de hidratação abaixo de 40 unidades arbitrarias (UA), caracterizando, de acordo com a escala padronizada pelo fornecedor do Corneometer<sup>®</sup>, como pele seca (COURAGE KHAZAKA, 2014).

**Tabela 5** - Variações médias e erro padrão das médias, dos valores de hidratação do estrato córneo (unidades arbitrárias) após uma única aplicação da emulsão aditivada ou não de 0,5% de extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis*.

	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>	<b>C4</b>
BASAL	41,97 ± 0,77	39,28 ± 0,71	39,58 ± 0,78	39,13 ± 0,68
T1	39,68 ± 0,65	34,16 ± 0,51 <sup>a</sup>	36,14 ± 0,63 <sup>ab</sup>	50,58 ± 0,80 <sup>a</sup>
T2	42,16 ± 0,68	37,13 ± 0,57 <sup>a</sup>	38,91 ± 0,75 <sup>ab</sup>	51,26 ± 0,95 <sup>a</sup>
T3	42,06 ± 0,70	38,21 ± 0,57 <sup>a</sup>	39,41 ± 0,65 <sup>ab</sup>	50,70 ± 0,67 <sup>a</sup>
T4	42,59 ± 0,66	38,40 ± 0,50 <sup>a</sup>	40,05 ± 0,61 <sup>ab</sup>	49,27 ± 0,61 <sup>a</sup>
T5	42,22 ± 0,64	38,86 ± 0,55 <sup>a</sup>	40,6 ± 0,68 <sup>ab</sup>	49,96 ± 0,68 <sup>a</sup>

**Onde:** <sup>a</sup>p-valor < 0,05 para Anova + Tukey em relação ao campo controle negativo-C1; <sup>b</sup>p-valor < 0,05 para Anova + Tukey em relação ao campo C2. **Basal** = antes da aplicação; **C1** = Controle negativo; **C2** = Veículo; **C3** = Veículo + 0,5% extrato de *Kalanchoe brasiliensis*; **C4** = Controle positivo. **T1, T2, T3, T4, T5** = medidas realizadas após 1, 2, 3, 4 e 5 horas, respectivamente.

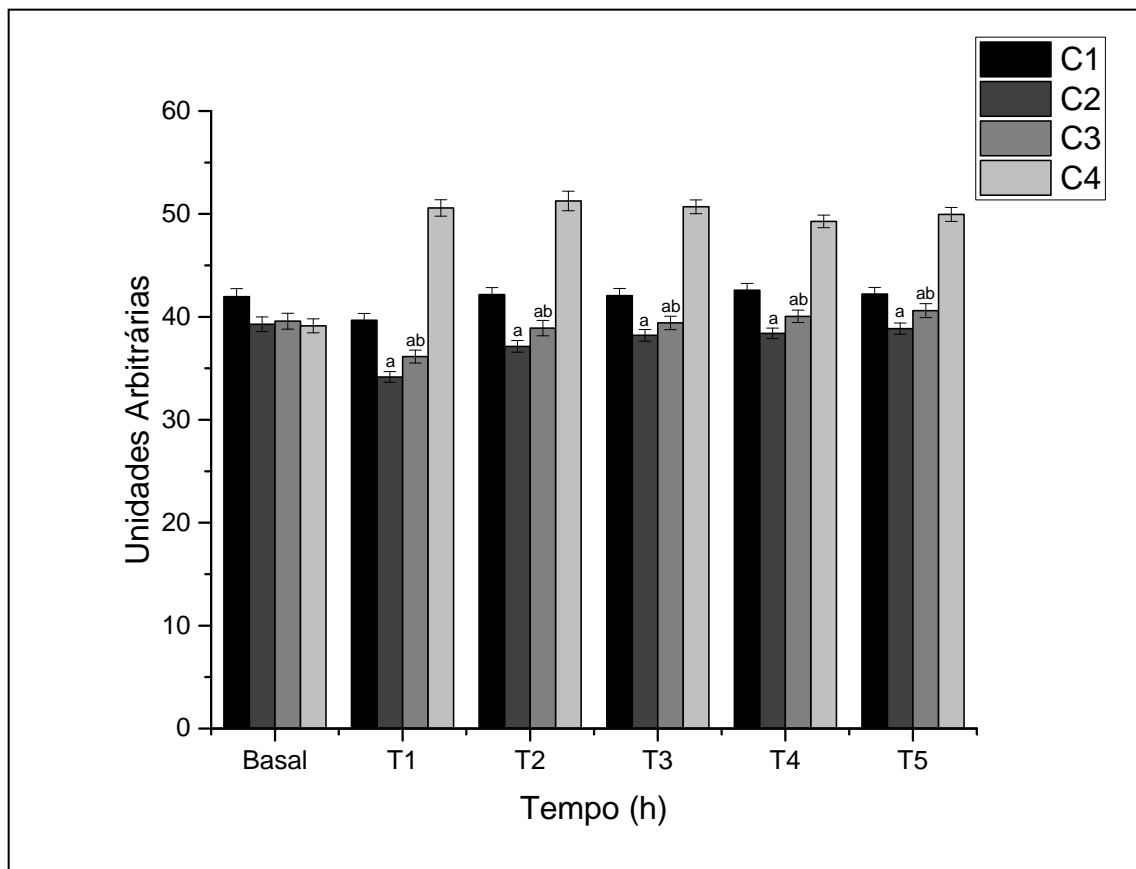
São apresentados, na Tabela 5 e a Figura 7, os valores de hidratação obtidos pelo método da capacitância, por meio do Corneometer<sup>®</sup>. Nota-se diminuição dos valores obtidos na primeira hora tanto para a área não tratada (C1), quanto para as demais áreas que receberam tratamento (C2 e C3), exceto o C4, onde se aplicou uma formulação comercial, que apresentou valores superiores logo após a primeira hora.

A formulação comercial utilizada como controle positivo (Hidrafil<sup>®</sup> gel) possui em sua composição um complexo hidratante constituído por acetato de tocoferol (vitamina E), glicerina, glucose (açúcar refinado e dextrose), lactose, L-citrulina, L-alanina, L-treonina, ureia, álcool cetílico e silicone, que garante efeitos de melhor performance de resultados, conforme pode se observar nos valores obtidos na Tabela 5.

Após cinco horas de aplicação das formulações, o campo contendo a formulação com o extrato (C3) apresentou maiores valores comparado ao que foi

aplicado o veículo (C2), demonstrando que a adição de 0,5% do extrato contribuiu positivamente no processo de hidratação e também que o extrato da planta em estudo é o responsável pelo incremento do conteúdo hídrico, qualificando o potencial hidratante do extrato hidroetanólico das folhas de *K. brasiliensis*.

**Figura 7** - Variações médias e erro padrão das médias dos valores de hidratação do estrato córneo após uma única aplicação da emulsão aditivada ou não de 0,5% de extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis*.



**Onde:** <sup>a</sup>p-valor < 0,05 para Anova + Tukey em relação ao campo controle (negativo-C1); <sup>b</sup>p-valor < 0,05 para Anova + Tukey em relação ao campo C2. **Basal** = antes da aplicação; **C1** = Controle negativo; **C2** = Veículo; **C3** = Veículo + 0,5% extrato de *Kalanchoe brasiliensis*; **C4** = Controle (positivo). **T1, T2, T3, T4, T5** = medidas realizadas após 1, 2, 3, 4 e 5 horas, respectivamente.

Couteau e colaboradores (2006) utilizando a mesma metodologia dessa pesquisa demonstraram a influência do veículo no processo de hidratação. Avaliaram diferentes formulações na forma de gel e emulsões, adicionadas ou não de ureia. Ao observarem os valores de hidratação dos veículos sem a adição da

ureia verificaram que o gel de Carbopol<sup>®</sup> 1342<sup>™</sup> apresentou poder de hidratação inferior ao gel de Sepigel<sup>™</sup> (*Polyacrilamide (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7*). Isso é possível de explicar pela composição do Sepigel<sup>™</sup>, pois é um *blend* composto por um homopolímero espessante, um emoliente derivado de óleos minerais do petróleo e um tensoativo (SEPIGEL<sup>™</sup>, 2015). Vale destacar que a formulação avaliada na presente pesquisa é composta pelo Carbopol<sup>®</sup> Ultrez 20 associado ao Novemer<sup>™</sup> EC-2 (*Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside*) e que apesar da composição ser diferente do Sepigel<sup>™</sup>, também se apresenta na forma de *blend* composto por agentes de viscosidade, emoliente e tensoativo.

Damasceno (2014) avaliou a hidratação de formulações compostas por 3,0% de Sepigel aditivadas ou não com extrato hidroglicólico dos cladódios de *Opuntia ficus indica* e os resultados da avaliação do veículo comparado à formulação com o extrato foram muito semelhantes. Como os resultados apresentados em nossa pesquisa, Damasceno (2014) demonstrou que após 5 horas da aplicação da formulação aditivada com 3,0% de extrato os resultados de hidratação foram significativos comparados com o veículo, atribuindo a atividade hidratante à presença do extrato.

Estudos realizados por Ribeiro e colaboradores (2015) na mesma região e condições ambientais padronizadas neste estudo, demonstraram aumento do conteúdo hídrico comparado ao veículo quando avaliaram nanoemulsões contendo 1,0% de extrato hidroglicólico dos cladódios de *Opuntia ficus indica* após cinco horas de uma única aplicação da formulação.

Contudo, nem sempre o ativo pode influenciar positivamente o perfil de hidratação. Vieira (2008) observou em seu trabalho comparando máscaras faciais com emulsões, adicionadas ou não de extrato de soja fermentado, que a máscara era um promotor de hidratação superior às emulsões. Diferentemente dessa pesquisa, o autor não atribui este efeito à ação do extrato, e sim ao veículo, pois os resultados das formulações com e sem extrato não foram diferentes. A mesma situação ocorreu com o perfil de hidratação quando Chang e colaboradores (2008) avaliaram formulações contendo extrato orgânico previamente liofilizado de *Lithospermum erythrorhizon* nas concentrações de 1%, 2,5% e 5%.

Em algumas literaturas científicas que estudaram o efeito hidratante de extratos vegetais que apresentavam em sua composição polissacarídeos e flavonoides o efeito biológico foi atribuído a esses metabólitos. Produtos emolientes, hidratantes, e antienvhecimento que contêm determinados tipos de flavonoides, podem agir sobre a pele em nível dos fibroblastos cutâneos, atuando na melhora da aparência da mesma (CRISAN et al. 2013).

Leelapornpisid e colaboradores (2014) utilizando extrato etilacetato das flores de *Tagetes erecta* Linn em preparações de geis, observaram o efeito hidratante, e atribuiu essa atividade aos flavonoides presentes nessa espécie vegetal.

Em estudos com extrato seco de *Echinacea purpurea* adicionado a formulações na forma de gel e de creme, foi demonstrado que em ambas as formulações o aumento nos índices de hidratação foram significativamente maiores do que os veículos, e que o efeito estava relacionado ao fato da espécie vegetal conter componentes hidrofílicos, como polissacarídeos (YOTSAWIMONWAT et al., 2010).

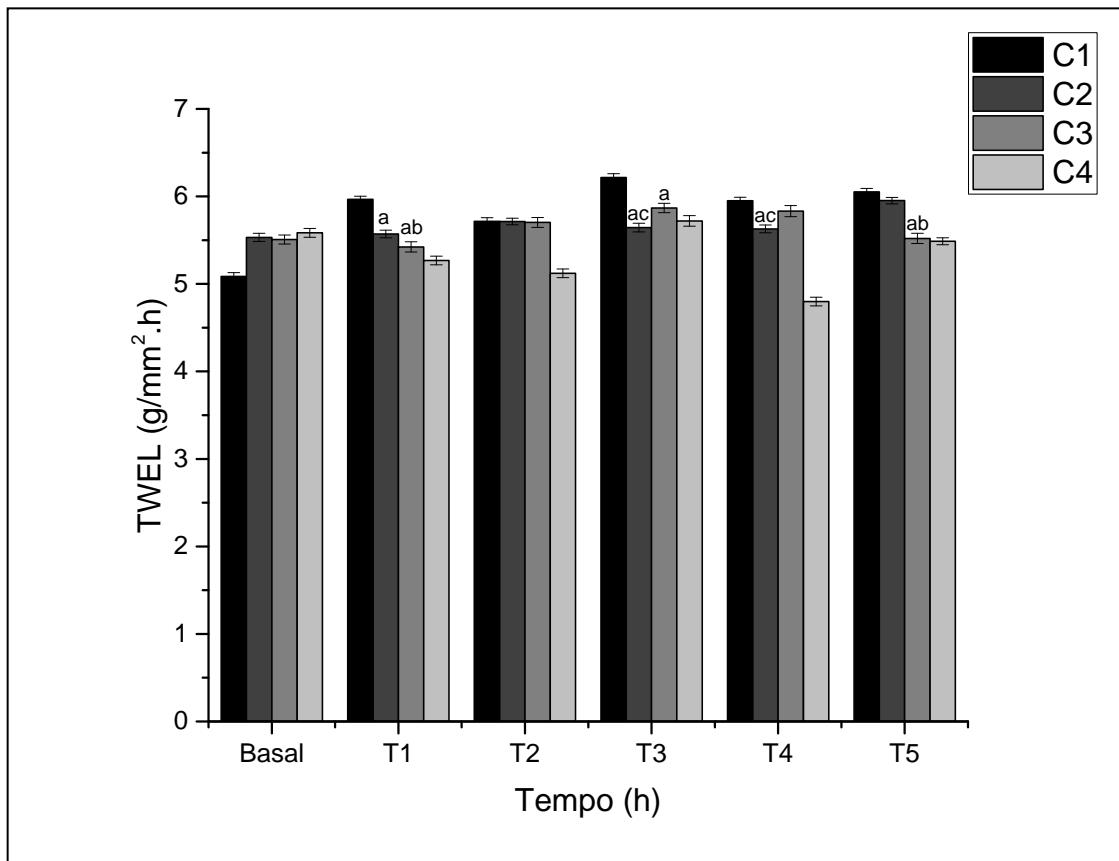
**Tabela 6** - Variações médias e erro padrão dos valores de perda de água transepidermal (g/mm<sup>2</sup>.h) após uma única aplicação da emulsão aditivada ou não de 0,5% de extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis*.

	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>	<b>C4</b>
BASAL	5,09 ± 0,04	5,53 ± 0,05	5,51 ± 0,05	5,58 ± 0,05
T1	5,97 ± 0,03	5,57 ± 0,04 <sup>a</sup>	5,42 ± 0,06 <sup>ab</sup>	5,27 ± 0,05 <sup>a</sup>
T2	5,72 ± 0,04	5,71 ± 0,04	5,70 ± 0,06	5,10 ± 0,04 <sup>a</sup>
T3	6,22 ± 0,04	5,64 ± 0,05 <sup>a</sup>	5,87 ± 0,05 <sup>a</sup>	5,72 ± 0,05 <sup>a</sup>
T4	5,95 ± 0,04	5,63 ± 0,04 <sup>a</sup>	5,83 ± 0,06	4,80 ± 0,05 <sup>a</sup>
T5	6,05 ± 0,04	5,95 ± 0,04	5,50 ± 0,06 <sup>ab</sup>	4,87 ± 0,04 <sup>a</sup>

**Onde:** <sup>a</sup>p-valor < 0,05 para ANOVA + Bonferroni em relação aos valores basais; <sup>b</sup>p-valor < 0,05 para ANOVA + Bonferroni em relação ao campo C2. **Basal** = antes da aplicação; **C1** = Controle negativo; **C2** = Veículo; **C3** = Veículo + 0,5% Extrato *K. brasiliensis*; **C4** = Controle positivo; **T1, T2, T3, T4 e T5** = medidas realizadas após 1, 2, 3, 4 e 5 horas respectivamente.

Com relação ao teste de perda de água transepidermal que avalia a integridade e função barreira da pele, os voluntários possuíam valores de TEWL abaixo de  $10 \text{ g/mm}^2\cdot\text{h}$ , caracterizando assim a pele como muito saudável de acordo com a padronização do fornecedor do equipamento (COURAGE KHAZAKA, 2015b). De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6 e Figura 8 é possível observar que a área não tratada (C1) apresentou aumento constante da evaporação de água da pele em função do tempo. As áreas (C2 - C4) apesar da variação, os valores se mantiveram abaixo quando comparados com C1.

**Figura 8** - Variações médias e erro padrão dos valores de perda de água transepidermal ( $\text{g/mm}^2\cdot\text{h}$ ) após uma única aplicação de aditivada ou não de 0,5% de extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis*.



**Onde:** <sup>a</sup>p-valor < 0,05 para ANOVA + Bonferroni em relação aos valores basais; <sup>b</sup>p-valor < 0,05 para ANOVA + Bonferroni em relação ao campo C2. **Basal** = antes da aplicação; **C1** = Controle negativo; **C2** = Veículo; **C3** = Veículo + 0,5% Extrato *K. brasiliensis*; **C4** = Controle positivo; **T1, T2, T3, T4 e T5** = medidas realizadas após 1, 2, 3, 4 e 5 horas respectivamente.



Após 1 hora de aplicação da formulação contendo o extrato de *K. brasiliensis* já é possível observar diminuição da TWEL estatisticamente significativa em relação a área não tratada (C1) e a área tratada com o veículo (C2) indicando proteção à função barreira da pele. Ainda comparando com C1, a proteção permaneceu até a quarta hora para C2. Esses resultados são semelhantes aos apresentados na pesquisa de Damasceno (2014), que também observou o mesmo comportamento após a aplicação de formulações contendo o extrato dos cladódios de *Opuntia ficus indica*.

Ao analisar a formulação contendo o extrato de *K. brasiliensis* na Tabela 6 e Figura 8 observa-se que promoveu a diminuição da TEWL até a quinta hora e os valores foram significativos com relação ao veículo e a área não tratada, garantindo o efeito barreira até 5 horas de uma única aplicação da formulação. Esses resultados nos permitem afirmar que a proteção do efeito barreira está relacionada ao extrato incorporado na formulação.

Observando a tabela 6, pode-se verificar que o controle positivo (Hidrafil® gel) apresenta um efeito protetor de aproximadamente 12% a mais que a formulação em estudo na quinta hora. No entanto ao fazer uma análise da composição da formulação utilizada como controle positivo, que contem 9 ativos hidratantes e a formulação testada que contém apenas o extrato de *K. brasiliensis* é possível evidenciar a performance do potencial hidratante da formulação desenvolvida.

Diferentes pesquisas que obtiveram resultados satisfatórios quanto ao efeito hidratante e a perda de água transepidérmica de formulações contendo extratos vegetais atribuíram o efeito a presença de polissacarídeos e flavonoides (AKHTAR et al., 2014; TROMMER; NEUBERT, 2005; YOKOYAMA et al., 2014; YOTSAWIMONWAT et al., 2010).

Nóbrega e colaboradores (2013) avaliaram o efeito barreira de formulação contendo extrato de *Matricaria chamomilla* L. por meio da medida do gradiente do vapor de água e foi possível observar que a formulação contendo o extrato contribuiu para a diminuição da perda de água transepidérmica. Sugeriram que o efeito barreira observado foi em virtude do teor de flavonoides. Gianeti e colaboradores (2013), também avaliaram hidratação cutânea e TEWL, concluindo que o extrato de chá verde, contendo polifenóis, promoveu efeito hidratante.

Secchi (2008) relatou que as proteínas em produtos cosméticos são utilizadas com diferentes objetivos, incluindo a hidratação e prevenção do envelhecimento. Destacou que proteínas ou hidrolisados com alto peso molecular podem formar filme sobre a pele promovendo efeito de oclusão, além da possibilidade em se ligar com moléculas de água, hidratando a pele.

Lynde (2008) discute a limitação da atividade hidratante por produtos que contêm proteínas como colágeno, queratina e elastina devido à baixa habilidade de penetrar até a derme. Boldrini, Tomal e Cunha (2011) relataram que algumas proteínas derivadas do soro do leite, em baixas concentrações, são consideradas hidratantes devido a sua polaridade, possuindo capacidade de adsorção e ligação com água na superfície da pele.

Como descrito na literatura científica, a composição química do suco das folhas da *K. brasiliensis* contém como componentes majoritários os polissacarídeos e flavonoides (FORTES et al., 2008; MOURÃO et al., 1999). Fernandes (2015) avaliou a fitoquímica do extrato hidroetanólico das folhas de *K. brasiliensis* e identificou compostos derivados glicosilados do flavonoide patuletina, conjugados com dois ou mais resíduos de açúcar. Nos testes realizados para avaliação da composição química em nossa pesquisa, descritos anteriormente, foram identificados açúcares, proteínas e compostos fenólicos. Dessa forma, como se demonstrou que o efeito hidratante é devido à presença do extrato, pode-se consequentemente relacionar o aumento do conteúdo hídrico e proteção à barreira cutânea à composição química do extrato principalmente aos açúcares, proteínas e a presença predominante de compostos flavonoídicos.

Como o veículo não apresenta nenhum ativo, a diminuição da perda de água transepidermal pode ser atribuída ao efeito oclusivo provocado pela formação de um filme na superfície da pele. Ribeiro e colaboradores (2015) relataram que as formulações contendo ou não extrato de *Opuntia ficus-indica* não diminuíram a TEWL porque as nanoemulsões não promoveram a oclusão.

Akhtar e colaboradores (2014) estudaram emulsão do tipo O/A adicionada de extrato de *Crocus sativus* e concluíram que a formulação foi capaz de reduzir a perda de água transepidermal e aumentar o nível de hidratação, dessa forma sugerindo que a formulação atuou por dois mecanismos: umectação e oclusão. No

estudo com o extrato seco de *E. purpúrea*, Yotsawimonwat e colaboradores (2010) atribuíram o efeito hidratante à propriedade higroscópica do mesmo. Assim, fundamentados nessa proposição e considerando que o extrato de *K. brasiliensis* também é higroscópico, pode-se sugerir que essa característica pode ter contribuído para o efeito hidratante mais pronunciado quando comparado com o veículo atuando pelo mecanismo de umectação. Bonté (2011) relacionou o mecanismo oclusivo à formação de filme sobre a pele em virtude dos polissacarídeos ligados aos flavonoides.

Nessa perspectiva, pode-se sugerir que a formulação desenvolvida hidrata pelo mecanismo de umectação considerando: i) o aumento do conteúdo hídrico nas camadas superficiais ii) a presença dos açúcares, proteínas e polifenóis iii) a característica higroscópica do extrato da *K. brasiliensis*. Também é viável considerar que a formulação hidratou pelo mecanismo de oclusão considerando: i) a composição da formulação, já que o veículo foi capaz de diminuir a TEWL; ii) a presença do extrato na formulação, pois diminuiu a TEWL de forma mais expressiva que o veículo e iii) a possibilidade dos açúcares, proteínas e compostos fenólicos presentes no extrato colaborarem na formação do filme sobre a superfície da pele.

Face aos testes clínicos de eficácia, utilizando metodologias que avaliam o conteúdo hídrico das camadas mais superficiais por capacitância e a evaporação de água que sinaliza a condição do efeito barreira da pele, pode-se afirmar que a adição de 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* na emulsão desenvolvida proporcionou efeito hidratante, aumentando o conteúdo hídrico e diminuindo a TEWL até 5 horas de uma única aplicação da formulação, possivelmente atuando pelos mecanismos de umectação e oclusão.

## 6 CONCLUSÕES

Nas condições experimentais padronizadas nessa pesquisa, foi possível concluir que:

O extrato hidroetanólico liofilizado obtido a partir das folhas de *K. brasiliensis* apresentou-se como um pó homogêneo de coloração amarela, odor característico e higroscópico;

O extrato em estudo foi completamente solúvel em água destilada na concentração de 1,0% na faixa de valores de pH entre 4,0 a 7,0, umidade de 7,84% e resíduo seco de 92,16%;

O extrato obtido apresenta na sua composição química açúcares totais, proteínas e compostos fenólicos;

O aumento da viscosidade aparente mínima foi dependente da concentração do *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside*, já que a concentração do *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* manteve-se a 0,4%;

A adição de 0,5% do extrato promoveu a diminuição da viscosidade e foi inversamente proporcional à concentração do *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside*. A formulação contendo 5,0% (p/p) desse componente diminuiu a viscosidade em aproximadamente 26% enquanto que a formulação com 2,0% apresentou um decréscimo de viscosidade em torno de 84%;

Tanto as formulações contendo *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside* e 0,4% (p/p) de *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*, aditivadas ou não com 0,5% do extrato de *K. brasiliensis* foram consideradas estáveis, pelos testes de estabilidades preliminares. No entanto, somente as formulações contendo 3,0% e 4,0% (p/p) foram submetidas aos testes de estabilidade acelerada;

As formulações submetidas aos testes de estabilidade acelerada foram consideradas estáveis e apresentaram o perfil pseudoplástico. No entanto, apenas a

formulação contendo 3,0% (p/p) de *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside* e 0,4% (p/p) de *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*, aditivadas ou não com 0,5% do extrato de *K. brasiliensis* foram submetidas aos testes de eficácia;

A formulação contendo 3,0% (p/p) de *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside*, 0,4% (p/p) de *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* e 0,5% do extrato de *K. brasiliensis*, foi capaz de aumentar o conteúdo hídrico das camadas superficiais da pele até 5 horas após uma única aplicação da formulação;

A formulação contendo 3,0% (p/p) de *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside*, 0,4% (p/p) de *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* e 0,5% do extrato de *K. brasiliensis*, diminuiu a perda de água transepidermal promovendo o efeito barreira da pele até 5 horas após uma única aplicação da formulação;

A emulsão desenvolvida com 0,5% do extrato hidroetanólico das folhas de *K. brasiliensis* e submetida aos testes clínicos, apresentou eficácia hidratante atuando possivelmente pelos mecanismos de oclusão e umectação, demonstrando potencial uso como produto cosmético hidratante.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização dessa pesquisa contribuiu significativamente em vários aspectos que devem ser mencionados e destacados: a) a apresentação de uma matéria-prima vegetal do Bioma Caatinga para uso na indústria cosmética; b) comprovação científica da eficácia hidratante do extrato hidroetanólico das folhas de *K. brasiliensis*; c) a divulgação inédita do uso da *K. brasiliensis* em produtos cosméticos agregando valores à cadeia produtiva da espécie já que não há relatos na literatura científica sobre o uso da mesma na área da cosmetologia d) maior interação entre os grupos de pesquisa da Instituição, pois essa espécie tem sido estudada sob outros aspectos pelo Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais Bioativos – PNBio da UFRN e) contempla grande parte da cadeia produtiva de um produto cosmético, pois considerou a obtenção do extrato vegetal, o desenvolvimento das formulações e a comprovação da eficácia clínica, culminando em um produto viável comercialmente f) também contribuiu para formação de recursos humanos especializados na área cosmética incluindo alunos de iniciação científica e finalmente essa pesquisa resultou em produção científica apresentada em congressos nacional e internacional, no depósito de patente, e em um conteúdo científico para publicação de artigo científico em periódicos indexados internacionalmente.

Ademais, os resultados criam perspectivas para futuros projetos especialmente na otimização do processo de extração de interesse na área cosmética, identificação dos açúcares, proteínas e compostos fenólicos presentes no extrato e estudos da atividade antioxidante com foco na eficácia fotoprotetora e antienvelhecimento.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AKHTAR, N.; KHAN, H. M. S.; ASHRAF, S.; MOHAMMAD, I. S.; SAQIB, N.; BASHIR, I. S. Moisturizing effect of stable cream containing *Crocus sativus* extracts. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 27, n. 6, p. 1881-1884, 2014.
- AKULOVA-BARLOW, Z. Kalanchoe: Beginner's delight, collector's dream. *Cactus and Succulent Journal*, v.81, n. 6, p. 268-276, 2009.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 114, n. 3, p. 325-354, 2007.
- ALGIN YAPAR, E.; INAL, O.; SEDEF ERDAL, M. Design and *in vivo* evaluation of emulgel formulations including green tea extract and rose oil. *Acta Pharmaceutica*, v. 63, n. 4, p. 531-543, 2013.
- ALMEIDA, C. de F. C. B. R.; RAMOS, M. A.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. A comparison, of knowledge about medicinal plants for three rural communities in the semi-arid region of northeast of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 127, n. 3, p. 674-684, 2010.
- ALMEIDA, I. F.; BAHIA, M. F. Evaluation of the physical stability of two oleogels. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 327, n. 1-2, p. 73-77, 2006.
- AMARAL, A. C. F., SIMÕES, E. V., FERREIRA, J. L. P. *Coletânea científica de plantas de uso medicinal*. Curitiba: Fiocruz, 2005.
- ANON, A. O/W emulsion based on sodium polyacrylate. *Research Disclosure*, v. 464, n. 51, p. 2280-2281, 2002.
- ANTHONISSEN, M.; DALY, D.; PEETERS, R.; VAN BRUSSEL, M.; FIEUWS, S.; MOORTGAT, P.; FLOUR, M.; VAN DEN KERCKHOVE, E. Reliability of Repeated Measurements on Post-Burn Scars with Corneometer<sup>®</sup> CM 825. *Skin Research and Technology*, v. 21, n. 3, p. 302-312, 2015.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. Brasília: Anvisa, 2004.
- ATHUKORALA, Y.; KIM, K.N.; JEON, Y.J. Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food and Chemical Toxicology*, v. 44, n. 7, p. 1065-1074, 2006.

- ATRUX-TALLAU, N.; ROMAGNY, C.; PADOIS, K.; DENIS, M.; HAFTEK, M.; FALSON, F.; PIROT, F.; MAIBACH, H. I. Effects of glycerol on human skin damaged by acute sodium lauryl sulphate treatment. *Archives of Dermatological Research*, v. 302, n. 6, p. 435-441, 2010.
- AVDEEF, A.; BERGER, C. M.; BROWNELL, C. pH-Metric Solubility. 2: Correlation between the acid-base titration and the saturation shake-flask solubility pH methods. *Pharmaceutical Research*, v. 17, n. 1, p. 85-89, 2000.
- BABILAS, P.; KNIE, U.; ABELS, C. Cosmetic and dermatologic use of alpha hydroxy acids. *Journal of the German Society of Dermatology*, v. 10, n. 7, p. 488-491, 2012.
- BABY, A. R.; MIGLIATO, K. F.; MACIEL, C. P. M.; ZAGUE, V.; PINTO, C. A. S. O.; SALGADO, H. R. N.; KANEKO, T. M.; VELASCO, M. V. R. Accelerated chemical stability data of O/W fluid emulsions containing the extract of *Trichilia catigua* Adr. Juss (and) *Ptychopetalum olacoides* Benth. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 43, n. 3, p. 405-412, 2007.
- BABY, A. R.; HAROUTIOUNIAN-FILHO, C. A.; SARRUF, F. D.; TAVANTE-JUNIOR, C. R.; PINTO, C. A. S. O.; ZAGUE, V.; ARÊAS, E. P. G.; KANEKO, T. M.; VELASCO, M. V. R. Estabilidade e estudo de penetração cutânea *in vitro* da rotina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44, n.2, p. 233-248, 2008.
- BARNES, H. A. The rheology of emulsions. In: *Emulsions: Structure Stability and Interactions*. Org.: Petsev, D.N. Elsevier, p. 721-759, 2004.
- BARONI, A.; BUOMMINO, E.; DE GREGORIO, V.; RUOCCO, E.; RUOCCO, V.; WOLF, R. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in Dermatology*, v. 30, n. 6, p. 257-262, 2012.
- BERARDESCA, E.; BORRONI, G. Instrumental Evaluation of Cutaneous Hydration. *Clinics in Dermatology*, v. 13, n. 4, p. 323-327, 1995.
- BOLDRINI, F. M.; TOMAL, A. A. B; CUNHA, M. E. T. Extração de proteínas do soro de leite por coacervação com polissacarídeo e sua utilização em formulação cosmética. *UNOPAR Científica Ciências Exatas e Tecnológicas*, v. 10, n. 1, p. 43-48, 2011.
- BONTÉ, F. Skin moisturization mechanisms: New data. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, v. 69, n. 3, p. 135-141, 2011.
- BRACONI, F. L.; OLIVEIRA, I. S.; BARONI, M. N. F.; ROCHA FILHO, P. A. Aplicação cosmética do óleo de canola. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO E IBÉRICO DE QUÍMICOS COSMÉTICOS, 12. São Paulo. *Anais*. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, p. 6-19, 1995.



BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRANDNER, J. M. Pores in the epidermis: aquaporins and tight junctions. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 29, n. 6, p. 413-422, 2007.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira, volume 2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546p.

BRASIL. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2 ed. Brasília: Anvisa, 2008. 120 p.

CAMARGO JUNIOR, F. B.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Skin moisturizing effects of panthenol-based formulations. *Journal of Cosmetic Science*, v. 62, n. 4, p. 135-141, 2011.

CAPITANI, R. D.; MERCURIO, D. G.; CAMARGO JUNIOR, F. B.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Stability and Clinical efficacy of Moisturizing Cosmetic Formulations Containing Vitamins C e E. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, v. 9, n. 2, p. 215-224, 2012.

CARBOPOL. The new standard for high performance rheology control. Technical Data Sheet. Cleveland: Carbopol® Ultrez 20 Polymer, 2006.

CHANG, M. J.; HUANG, H. C.; CHANG, H. C.; CHANG, T. M. Cosmetics formulations containing *Lithospermum erythrorhizon* root extract show moisturizing effects on human skin. *Archives of Dermatological Research*, v. 300, n. 6, p. 317-323, 2008.

CHENG, Y.; DONG, Y.; WANG, J.; DONG, M. ZOU, Y.; REN, D.; YANG, X.; LI, M.; SCHRADER, A.; ROHR, M. Moisturizing and anti-sebum secretion effects of cosmetic application on human facial skin. *Journal of Cosmetic Science*, v. 60, n. 1, p. 7-14, 2009.

CIR – Cosmetics Ingredient Review. Disponível em: <<http://www.cir-safety.org/ingredients>>. Acesso em: jun. 2015.

CORREA, N. M.; CAMARGO JUNIOR, F. B.; IGNÁCIO, R. F.; LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes geis hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 1, p. 73-78, 2005.

COSING – European Commission Health and Consumers – Cosmetics Ingredients & Substances. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/consumers/cosmetics/cosing/index.cfm?fuseaction=search.advanced>> Acesso em : jun. 2015.

- COSTA, S. S.; SOUZA, M. de L.; IBRAHIM, T.; MELO, G. O. de.; ALMEIDA, A. P. de.; GUETTE, C.; FÉREZOU, P. J.; KOATZ, V. L. G. Kalanchosine Dimalate, an Anti-inflammatory Salt from *Kalanchoe brasiliensis*. *Journal of Natural Products*, v. 69, n. 5, p. 815-818, 2006.
- COSTA, R. S.; OZELA, E. F.; BARBOSA, W. L. R.; PEREIRA, N. L.; SILVA JUNIOR, J. O. C. Caracterização física, química e físico-química do extrato seco por nebulização (spray-drying) de *Cynara scolymus* L. (Asteraceae). *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 90, n. 3, p. 169-174, 2009.
- COURAGE KHAZAKA. Corneometer® CM 825. Colônia, Alemanha. 2015 a. Disponível em: <<http://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/55-corneometer>>. Acesso em: jun. 2015.
- COURAGE KHAZAKA. Tewameter® TM 300. Colônia, Alemanha. 2015b. Disponível em: <<http://www.courage-khazaka.de/index.php/en/faq-en/faq-scientific-devices/71-tewameter>>. Acesso em: jun. 2015.
- COURAGE KHAZAKA. Derma Unit SSC 3. Cologne, Alemanha. 2014. Disponível em <http://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/150-3combined-device>. Acesso em: jun. 2015.
- COUTEAU, C.; SÉBILLE-RIVAIN, V.; COIFFARD, L. J. M. Influence of Excipients on Moisturizing Effect of Urea. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.32, n. 2, p. 239-242, 2006.
- CRISAN, D.; MOLDOVAN, M.; BADEA, I.; AVRAM, R.; BOCA, A.; MELINCOVICI, C.; MIHU, C.; CRISAN, M. Evaluation of the efficacy of anti-ageing and hydrating products on the cutaneous senescence process. Preliminary data. *Farmacia*, v. 61, n. 6, p. 1082-1090, 2013.
- CRUZ, B. P.; CHEDIER, L. M.; PEIXOTO, P. H. P.; FABRI, R. L.; PIMENTA, D. S. Effects of light intensity on the distribution of anthocyanins in *Kalanchoe brasiliensis* Camb. and *Kalanchoe pinnata* (Lamk.) Pers. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, v.84, n.1, p.211-217, 2012.
- CUNHA, G. M. A. Atividade Antimicrobiana de Plantas Popularmente Usadas no Ceará. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.76, n. 1, p. 5-6, 1995.
- CUNHA, A. P.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R.; CUNHA, E. Constituintes de plantas com interesse em cosmética e dermatologia. In: *Plantas e produtos vegetais em cosmética e dermatologia*. Lisboa/Portugal: Fundação Calouste Gulbenkian, p. 47-62, 2004.
- DAL´BELO, S. E.; GASPAS, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing *Aloe vera* extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. *Skin Research and Technology*, v.12, n.4, p. 241-246, 2006.

DAMASCENO, G. A. B. *Obtenção de Extratos da Opuntia ficus-indica (L.) Mill e suas Aplicações em Formulações Cosméticas: Avaliação in vivo do Sensorial e da Eficácia Hidratante*. 2014. 98 f Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

DANIELS, R. Pharmaceutical technology: gels for dermal application. *Pharmazie in unserer Zeit*, v. 147, p. 16-20, 2002.

DARLENSKI, R.; SASSNING, S.; TSANKOV, N.; FLUHR, J. W. Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 72, n. 2, p. 295-303, 2009.

DARLENSKI, R.; FLUHR, J. W. Moisturizers and emollients. In: *Practical Aspects of Cosmetic Testing*. p. 123-141, 2011.

DAUDT, R. M.; BACK, P. I.; CARDOZO, N. S. M.; MARCZAK, L. D. F.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C. Pinhão starch and coat extract as new natural cosmetic ingredients: Topical formulation stability and sensory analysis. *Carbohydrate Polymers*, v. 134, p. 573-580, 2015.

DAVIS, H. M. Analysis of creams and lotions. In: SENZEL, A. J. (Ed.). *Newburger's manual of cosmetic analysis*. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1977. cap.4, p.32.

DERKACH, S. R. Rheology of emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 151, n. 1-2, p. 1-23, 2009.

DE WET, H.; NCIKI, S.; VAN VUUREN, S. F. Medicinal plants used for the treatment of various skin disorders by a rural community in northern Maoutaland, South Africa. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 9, n. 51, p. 1 - 9, 2013.

DI GIUSEPPE, E.; CORBI, F.; FUNICIELLO, F.; MASSMEYER, A.; SANTIMANO, T.N.; ROSENAU, M.; SAVAILLE, A. Characterization of Carbopol<sup>®</sup> hydrogel rheology for experimental tectonics and geodynamics. *Tectonophysics*, v. 642, p. 29-45, 2015.

DI MATTIA, C. D.; SACCHETTI, G.; MASTROCOLA, D.; SARKER, D. K.; PITTIA, P. Surface properties of phenolic compounds and their influence on the dispersion degree and oxidative stability of olive oil O/W emulsions. *Food hydrocolloids*, v. 24, n. 6-7, p. 652-658, 2010.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DUTSCHK, V.; CHEN, J.; PETZOLD, G.; VOGEL, R.; CLAUSSE, D.; RAVERA, F.; LIGGIERI, L. The role of emulsifier in stabilization of emulsions containing colloidal alumina particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 413, p. 239-247, 2012.

- ELIAS, P. M. Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. *Journal of Investigative Dermatology*, v.80, p. 44s–49s, 1983.
- EL-RAFIE, H. M.; EL-RAFIE, M. H.; ZAHRAN, M. K. Green Synthesis of silver nanoparticles using polysaccharides extracted from marine macro algae. *Carbohydrate Polymers*, v. 96, n. 2, p. 403-410, 2013.
- FARIA, W. C. S.; DAMASCENO, G. A. B.; FERRARI, M. Moisturizing effect of a cosmetic formulation containing pequi oil (*Caryocar brasiliense*) from the Brazilian cerrado biome. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 50, n. 1, p. 131-136, 2014.
- FEINGOLD, K. The important role of lipids in the epidermis and their role in the formation and maintenance of the cutaneous barrier. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1841, n. 3, p. 279, 2014.
- FENG, L.; CHANDAR, P.; LU, N.; VINCENT, C.; BAJOR, J.; McGUINNESS H. Characteristic differences in barrier and hygroscopic properties between normal and cosmetic dry skin. II. Depth profile of natural moisturizing factor and cohesivity. *International Journal of Cosmetic Science*, v.36, n. 3, p. 231-238, 2014.
- FERNANDES, J. M. *Isolamento e caracterização dos marcadores químicos do extrato das folhas de Kalanchoe brasiliensis Cambess*. 2012. 52 f. Trabalho de conclusão de curso (Obtenção de grau de farmacêutico) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.
- FERNANDES, J. M. *Kalanchoe brasiliensis CAMBESS e Kalanchoe pinnata (LAMARCK) PERSOON: Investigação química e avaliação da atividade antiofídica frente ao veneno de Bothrops jararaca*. 2015. 185 f. Dissertação (Mestrado em ciências Farmacêuticas), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.
- FERRARI, M. *Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleos de andiroba e copaíba*. 1998. 147 f. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.
- FERRARI, M.; NAKANO, A. K.; CAETANO, J. P. S.; ROCHA FILHO, P. A. *Desenvolvimento e avaliação da eficácia fotoprotetora de emulsões múltiplas contendo óleo de andiroba*. In: 16 Congresso Brasileiro de Cosmetologia, 2002, São Paulo. Anais eletrônicos. São Paulo: Elkadi, 2002.
- FERRARI, M.; ROCHA-FILHO, P. A. Multiple emulsions containing amazon oil: açai oil (*Euterpe oleracea*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.21, n.4, p.737-743, 2011.
- FORTES, T. O.; ALVIANO, D. S.; TUPINAMBA, G.; PADRÓN, T. S.; ANTONIOLLI, A. R.; ALVIANO, C. S.; SELDIN, L. Production of an antimicrobial substance against

*Cryptococcus neoformans* by *Paenibacillus brasiliensis* Sa3 isolated from the rhizosphere of *Kalanchoe brasiliensis*. *Microbiological Research*, v. 163, n. 2, p. 200-207, 2008.

FLUHR, J. W.; DARLENSKI, R.; SURBER, C. Glycerol and the skin: holistic approach to its origin and functions. *British Journal of Dermatology*, v. 159, n. 1, p. 23-34, 2008.

FRIEDMAN, M.; JÜRGENS, H. S. Effect of pH in the Stability of Plant Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, n. 6, p. 2101-2110, 2000.

GEHRIG, H.; GAUSSMANN, O.; MARX, H.; SCHWARZOTT, D.; KLUGE, M. Molecular phylogeny of the genus *Kalanchoe* (Crassulaceae) inferred from nucleotide sequences of the ITS-1 and ITS-2 regions. *Plant Science*, v. 160, n. 5, p. 827-835, 2001.

GIANETI, M. D.; MERCURIO, D. G.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. The use of Green tea extract in cosmetic formulations: not only an antioxidant active ingredient. *Dermatologic Therapy*, v. 26, n. 3, p. 267-271, 2013.

GONÇALEZ, M. L.; MARCUSSI, D. G.; CALIXTO, G. M. F.; CORRÊA, M. A.; CHORILLI, M. Structural Characterization and *In vitro* antioxidant activity of Kojic Dipalmitate loaded W/O/W multiple emulsions intended for skin disorders. *Biomed Research International*, v. 2015, p. 1-8, 2015.

GUARATINI, T.; GIANETI, M. D.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Stability of cosmetic formulations containing esters of Vitamins E and A: Chemical and physical aspects. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 327, n. 1-2, p. 12-16, 2006.

GUTTERMAN, Y.; CHAUSER-VOLFSON, E. The content of secondary phenol metabolites in pruned leaves of *Aloe arborescens*, a comparison between two methods: leaf exudates and leaf water extract. *Journal of Natural Medicines*, v. 62, n.4, p. 430-435, 2008.

GUZZI, S.; WEBLER, E. M.; VIEIRA, J. A. C.; MIRANDA, E. H.; GASPAROTTO JUNIOR, A.; STEINDEL, M.; CARDOZO JUNIOR, E. L. Development and stability study of *Kalanchoe crenata* semi-solid formulation and its positive effect on the inflammatory response induced by *Leishmania brazilliensis* in mice. *Revista Brasileira de Farmacia*, v. 95, n. 2, p. 748-769, 2014.

HAN, N. S.; BASRI, M.; RAHMAN, M. B. A.; RAHMAN, R. N. Z. R. A.; SALLEH, A. B.; ISMAIL, Z. Phase behavior and formulation of Palm Oil esters o/w nanoemulsions stabilized by hydrocolloid gums for cosmeceuticals application. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 32; n. 10, p. 1428-1433, 2011.

- HERRERA, A. Crassulacean acid metabolism and fitness under water deficit stress: if not for carbon gain, what is facultative CAM good for? *Annals of Botanical*, v.103, n. 4, p. 645-653, 2008.
- HOEKSEMA, H.; DE VOS, M.; PIRAYESH, J. V. A.; MONSTREY, S. Scar management by means of occlusion and hydration: A comparative study of silicones versus a hydrating gel-cream. *Burns*, v. 39, n. 7, p. 1437-1448, 2013.
- HUA, W.; XIE, H.; CHEN, T.; LI, L. Comparison of two series of non-invasive instruments used for the skin physiological properties measurements: the 'Soft Plus' from Callegari S.p.A vs the series of detectors from Courage & Khazaka. *Skin Research and Technology*, v. 20, n. 7, p. 74-80, 2014.
- IFSCC Monograph Number 3: an Introduction to Rheology. Dorset: Micelle Press, 1997. 35 p.
- IHU – Revista do Instituto Humanitas Unisinos. Caatinga: um bioma exclusivamente brasileiro... e o mais frágil, n. 389, ano XII, 2012.
- ISAAC, V. L. B.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO, H. R. N.; CORRÊA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 29, n. 1, p. 81-96, 2008.
- JIANG, J.; MEI, Z.; XU, J.; SUN, D. Effect of inorganic electrolytes on the formation and the stability of water-in-oil (W/O) emulsion. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 429, p. 82-90, 2013.
- JING, P.; GIUSTI, M. M. Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich Purple corn (*Zea mays* L.) color extract. *Journal of food and chemistry*, v. 72, n. 7, p. 363-368, 2007.
- KAMBOJ, A.; SALUJA, A. K. *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz.: Phytochemical and pharmacological profile: A review. *Pharmacognosy Review*, v. 3, n. 6, p. 364-374, 2009.
- KHAN, B. A.; AKHTAR, N.; WASEEM, K.; MAHMOOD, T.; RASUL, A.; IQBAL, M.; ZAMAN, S. Visioscan<sup>®</sup> VC98, Corneometer<sup>®</sup> MPA 5 and Tewameter<sup>®</sup> MPA 5. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 6, n.3, p. 225-227, 2012.
- KRAFT, J. N.; LYNDE, C. W. Moisturizers: What they are and a practical approach to product selection. *Skin Therapy Letter – Editor: Dr. Stuart Maddin*, v. 10, n. 5, 2005.
- KUNDU, P.; AGRAWAL, A.; MATEEN, H.; MISHRA, I. M. Stability of oil-in-water macro-emulsion with anionic surfactant: Effect of electrolytes and temperature. *Chemical Engineering Science*, v. 102, p. 176-185, 2013.

- KURASAWA, M.; MAEDA, T.; OBA, A.; YAMAMOTO, T.; SASAKI, H. Tight junctions regulates epidermal calcium ion gradient and differentiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 406, n. 4, p. 506-511, 2011.
- LALL, N.; KISHORE, N. Are plants used skin care in South Africa fully explored? *Journal of Ethnopharmacology*, v. 153, n. 1, p. 61-84, 2014.
- LEELAPORNPISID, P.; KIATTISIN, K.; JANTRAWUT, P.; PHRUTIVORAPONGKUL, A. Nanoemulsion loaded with marigold flower extract (*Tagetes erecta* Linn) in gel preparation as anti-wrinkles cosmeceutical. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 6, n. 2, p. 231-236, 2014.
- LEITE-SILVA, V. R.; SCHULMAN, M. A.; FERELLI, C.; GIMENES, J. M.; RUAS, G. W.; BABY, A. R.; VELASCO, M. V. R.; TAQUEDA, M. E.; KANEKO, T. M. Hydrating effects of moisturizer active compounds incorporated into hydrogels: in vivo assessment and comparison between devices. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 8, n. 1, p. 32-39, 2009.
- LEITE-SILVA, V. R.; LAMER, M. L.; SANCHEZ, W. Y.; LIU, D. C.; SANCHEZ, W. H.; MORROW, I.; MARTIN, D.; SILVA, H. D. T.; PROW, T. W.; GRICE, J. E.; ROBERTS, M. S. The effect of formulation on the penetration of coated and uncoated zinc oxide nanoparticles into the viable epidermis of human skin in vivo. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 84, n. 2, p. 297-308, 2013.
- LIMA, C. G.; VILELA, A. F. G.; PIANOVSKI, A. R.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; 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, n. 3, p. 239-245, 2008.
- LYNDE, C. Moisturizers for the treatment of inflammatory skin conditions. *Journal of Drugs in Dermatology*, v. 7, n. 11, p. 1038-1043, 2008.
- LISBOA, M. S.; FERREIRA, S. M.; SILVA, M. S. Uso de plantas medicinais para tratar úlceras e gastrites pela comunidade do povoado vila capim, Município de Arapiraca-AL, Nordeste do Brasil. *Setientibus Série Ciências Biológicas (Etnobiologia)*. v. 6, p. 13-20, 2006.
- LIU, J.; WILLFÖR, S.; XU, C. A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive carbohydrates and dietary fibre*, v. 5, n. 1, p. 31-61, 2015.
- LODÉN, M. Biophysical methods of providing objective documentation of the effects of moisturizing creams. *Skin Research and Technology*. v.1, n. 3, p. 101-108, 1995.
- LODÉN, M. The clinical benefit of moisturizers. *European Academy of Dermatology and Venerology*. v. 19, n. 6, p. 672-688, 2005.

- LODÉN, M. Interactions between the stratum corneum and topically applied products: regulatory, instrumental and formulation issues with focus on moisturizers. *British Journal of Dermatology*, v. 171, s.3, p. 38-44, 2014.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.
- MACHADO, M.; BRONZE, M. R.; RIBEIRO, H. New cosmetic emulsions for dry skin. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 6, n. 4, p. 239-242, 2007.
- MAISUTHISAKUL, P.; HARNASILAWAT, T. Characterization and Stabilization of the Extract from Mango Seed Kernel in a Cosmetic Emulsion. *Kasertsart Journal Natural Science*, v. 45, n. 3, p. 521-529, 2011.
- MAHMOOD, T.; AKHTAR, N.; KHAN, B. A.; AHMAD, M.; KHAN, H. M. S.; ZAMAN, S. U. Applications of stable green tea extract cream on human cheeks. *International Journal of Academic Research*, v. 2, n. 2, p. 121- 126, 2010.
- MAHMOOD, T.; AKHTAR, N. Stability of a Cosmetic Multiple Emulsion Loaded with Green Tea Extract. *The Scientific World Journal*, v. 2013, p. 1-7, 2013.
- MAHMOOD, T.; AKHTAR, N.; KHAN, B. A.; RASUL, A.; KHAN, H. M. S. Fabrication, physicochemical characterization and preliminary efficacy evaluation of a W/O/W multiple emulsion loaded with 5% green tea extract. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 49, n. 2, p. 341-349, 2013.
- MAJAZ, Q.; KHURSHID, M.; NAZIM, S.; RAHIL, K.; SIRAJ, S. Evaluation of antioxidant activity of *Kalanchoe pinnata* roots. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, v. 2, n. 6, p. 1772-1775, 2011.
- MASMOUDI, H.; LE DRÉAU, Y.; PICCERELLE, P.; KISTER, J. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 289, n. 1-2, p. 117-131, 2005.
- MATOS, L. L. *Otimização de solução extrativa e desenvolvimento tecnológico de produto seco por aspersão de Kalanchoe brasiliensis Camb.* 2009. 70 f. Dissertação (Qualificação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- MENDEZ, A. S. L.; SIMIONATO, N. O.; VALDUGA, A. T.; REGINATTO, F. H. Caracterização de preparações extrativas obtidas de *Passiflora alata* Curtis. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 32, n. 1, p. 105-111, 2011.
- MENON, G. K.; CLEARY, G. W.; LANE, M. E. The structure and function of the stratum corneum. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 435, n. 1, p. 3-9, 2012.



MISHRA, B.; PANDIT, J. K. Prolonged release of pentazocine from multiple O/W/O emulsions. *Drug Development and Industry Pharmacy*, v.15, n.8, p.1217-1230, 1989.

MIYAI, M.; MATSUMOTO, Y.; YAMANISHI, H.; YAMAMOTO-TANAKA, M.; TSUBOI, R.; HIBINO, T. Keratinocyte-Specific Mesotrypsin contributes to the desquamation process via Kallikrein activation and LEKTI degradation. *Journal of Investigative Dermatology*. v. 134, n. 6, p. 1665-1674, 2014.

MOURÃO, R. H. V. ; SANTOS, F. O., FRANZOTTI, E. M. ; MORENO, M. P.; ANTONIOLLI, A. R. Antiinflammatory activity and acute toxicity (LD50) of the juice of *Kalanchoe brasiliensis* (Camb.) leaves picked before and during bloomong. *Phytotherapy Research*, v. 13, p. 352-354, 1999.

NEGREIROS, M. M. F. *Nanopartículas de prata contendo polissacarídeo sulfatados de algas: Caracterização química, morfológica e identificação de suas atividades antioxidante, bactericida, antiproliferativa e imunomodulatória*. 2015. 143 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

NÓBREGA, A. T.; WAGEMAKER, T. A. L.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Antioxidant activity of *Matricaria chamomilla* L. extract and clinical efficacy of cosmetic formulations containing this extract and its isolated compounds. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, v. 10, n. 2, p. 249-261, 2013.

NOLAN, K.; MARMUR, E. Moisturizers: Reality and the skin benefits. *Dermatologic Therapy*, v. 25, n. 3, p. 229-233, 2012.

NOVEMER™ EC-2. Multifunctional Liquid Polymer for High Performance Skin Care Systems. Technical data sheet. Cleveland: NOVEMER™ EC-2 polymer, 2011.

OLIVEIRA, M. B.; PRADO, A. H.; BERNEGOSSI, J.; SATO, C. S.; BRUNETTI, I. L.; SCARPA, M. V.; LEONARDI, G. R.; FRIBERG, S. E.; CHORILLI, M. Topical application of retinyl palmitate-loaded nanotechnology-based drug delivery systems for the treatment of skin aging. *Biomed Research International*, v. 2014, p. 1-7, 2014.

OLLAGNIER, M.; HSU, G.; MORAN, B.; BUQUEN, L. Formulating for electrolyte resistance in conjunction with sensory appeal. *Cosmetics & Toiletries*, v. 127, n. 12, p. 875-879, 2012.

ONTIVEROS, J. F.; BOUTON, F.; DURAND, M.; PIERLOT, C.; QUELLET, C.; NARDELLO-RATAJ, V.; AUBRY, J. M. Dramatic influence of fragrance alcohols and phenols on the phase inversion temperature of the Brij30/n-octane/water system. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 478, p. 54-61, 2015.

PIANOVSKI, A. R.; VILELA, A. F. G.; LIMA, C. G.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V.F. M.; DE MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Desenvolvimento e

avaliação da estabilidade de emulsões múltiplas O/A/O com óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*). *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 89, n. 2, p. 155-159, 2008.

PLESSIS, J. d.; STEFANIAK, A.; ELOFF, F.; JOHN, S.; AGNER, T.; CHOU, T.C.; NIXON, R.; STEINER, M.; FRANKEN, A.; KUDLA, I.; HOLNESS, L. International guidelines for the *in vivo* assessment of skin properties in non-clinical settings: Part.2. Transepidermal water loss and skin hydration. *Skin Research and Technology*, v.19, n. 3, p. 265-278, 2013.

POSER, G. L. *Polissacarídeos*. In: SIMÕES CMO et al. (Orgs), *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/UFSC. 2004. p. 504–505.

PRISTA, L. N., ALVES, A. C., MORGADO, R. M. *Técnica farmacêutica e farmácia Galénica*. 5. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995. v.1, p.453-454.

PROKSCH, E.; BRANDNER, J. M.; JENSEN, J. M. The Skin: an indispensable barrier. *Experimental Dermatology*, v. 17, n. 12, p. 1063-1072, 2008.

RAMOS-e-SILVA, M.; JACQUES, C. M. C. Epidermal barrier function and systemic diseases. *Clinics in Dermatology*, v. 30, n. 3, p. 277-279, 2012.

RAWLINGS, A. V.; HARDING, C.; WATKINSON, A.; BANKS, J.; ACKERMAN, C.; SABIN, R. The effect of glycerol and humidity on desmosome degradation in stratum corneum. *Archives Dermatological Research*, v. 287, n. 5, p. 457-464, 1995.

RAWLINGS, A. V.; CANESTRATI, D. A.; DOBKOWSKI, B. Moisturizer technology versus clinical performance. *Dermatologic Therapy*, v. 17, s. 1, p. 49-56, 2004.

RAWLINGS, A. V.; HARDING, C. R. Moisturization and skin barrier function. *Dermatologic Therapy*, v. 17, suppl. 1, p. 43-48, 2004.

RAWLINGS, A. V. Molecular basis for stratum corneum maturation and moisturization. *British Journal of Dermatology*, v. 171, suppl. 3, p. 19-28, 2014.

RECHIA, L. M. *Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de gel a base de extrato de *Melissa officinalis* L.* 2010. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

RIBEIRO, C. *Cosmetologia Aplicada a dermoestética*. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

RIBEIRO, R. C. A.; BARRETO, S. M. A. G.; OSTROSKY, E. A.; ROCHA-FILHO, P. A.; VERÍSSIMO, L. M.; FERRARI, M. Production and Characterization of Cosmetic Nanoemulsions containing *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill extract as Moisturizing Agent. *Molecules*, v. 20, n. 2, p. 2492-2509, 2015.

ROGIERS, V.; BALLS, M.; BASKETTER, D.; BERARDESCA, E.; EDWARDS, C.; ELSNER, P.; ENNEN, J.; LÉVÊQUE, J. L.; LÓDEN, M.; MASSON, P.; PARRA, J.; PAYE, M.; PIÉRARD, G.; RODRIGUES, L.; SCHAEFER, H.; SALTER, D.; ZUANG, V. The Potential Use of Non-invasive Methods in the Safety Assessment of Cosmetic Products. *ATLA*, v. 27, n. 4, p. 515-537, 1999.

RUTTARATTANAMONGKOL, K.; AFIZAH, M. N.; RIZVI, S. S. H. Stability and rheological properties of corn oil and butter oil emulsions stabilized with texturized whey proteins by supercritical fluid extrusion. *Journal of Food Engineering*, v. 166, p. 139-147, 2015.

SECCHI, G. Role of protein in cosmetics. *Clinics in Dermatology*, v. 26, n. 4, p. 321-325, 2008.

SEPIGEL 305. Dossiê técnico do fabricante (Seppic) – Disponível em: <[http://cdn.fagron.com.br/doc\\_prod/docs\\_3/doc\\_238.pdf](http://cdn.fagron.com.br/doc_prod/docs_3/doc_238.pdf)>. Acesso em: jul.2015.

SILVA, M. S.; ANTONIOLLI, A. R.; BATISTA, J. S.; MOTA, C. N. Plantas medicinais usadas nos distúrbios do trato gastrointestinal no povoado Colônia Treze, Lagarto, SE, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 20, n.4, p. 815-829, 2006.

SINGH, M. V.; DIAS, L. O.; BALDINI, N. L. F.; SILVEIRA, D.; ZAGO, R. Desenvolvimento farmacotécnico e avaliação da estabilidade de gel com extrato aquoso de camomila para uso bucal. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 89, n. 2, p. 134-138, 2008.

SOHAIL, M.; MUHAMMAD, A.; HAMEED, A.; BATOOL, F.; REHMAN, M. S.; MAHMOOD, F. *In-vivo* evaluation of variation in human skin moisture content and transepidermal water loss (TEWL) of topical emulsion containing *Cuminum cyminum* (L.) seed extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 4, n. 01, p. 01-10, 2015.

SOTOODIAN, B.; MAIBACH, H. I. Noninvasive test methods for epidermal barrier function. *Clinics in Dermatology*, v. 30, n. 3, p. 301-310, 2012.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 108-109, p. 227-258, 2004.

TADROS, T. Viscoelastic properties of sterically stabilized emulsions and their stability. *Advances in Colloid and Interface Science*. v. 222, p. 692-708, 2015.

TOMOTAKE, H.; SHIMAOKA, I.; KAYASHITA, J.; NAKAJOH, M.; KATO, M. Physicochemical and Functional Properties of Buckwheat Protein Product. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 7, p. 2125-2129, 2002.

TORRES, T. A.; GEBARA, K. S.; STEFANELLO, T. B. Quality control of raw material retinoic acid. *Interbio*, v.4, n. 2, p. 53-58, 2010.

- TROMMER, H.; NEUBERT, R. H. H. The examination of polysaccharides as potential antioxidative compounds for topical administration using a lipid model system. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 298, n. 1, p. 153-163, 2005.
- VAN SMEDEN, J.; JANSSENS, M.; GOORIS, G. S.; BOUWSTRA, J. A. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1841, n. 3, p. 295-313, 2014.
- VELASCO, M. V. R.; MACIEL, C. P. M.; SARRUF, F. D.; PINTO, C. A. S. O.; CONSIGLIERI, V. O.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Desenvolvimento e Teste Preliminar da Estabilidade de formulações cosméticas acrescidas de extrato comercial de *Trichilia catigua* Adr. Juss (e) *Ptychopetalum olacoides* Benth. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 29, n. 2, p. 181-196, 2008.
- VERDIER-SÉVRAIN, S.; BONTÉ, F. Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 6, n. 2, p. 75-82, 2007.
- VIEIRA, R. P. *Desenvolvimento e estudo de eficácia clínica por métodos instrumentais de bases de uso tópico contendo extrato de soja fermentado*. Dissertação (Mestrado em Produção e controle farmacêuticos)- Faculdade de ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- WAN, D. C.; WONG, V. W.; LONGAKER, M. T.; YANG, G. P.; WEI, F. C. Moisturizing different racial skin types. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, v.7, n. 6, p. 25-32, 2014.
- WANG, H. M. D.; CHEN, C. C.; HUYNH, P.; CHANG, J. S. Exploring the potential of using algae in cosmetics. *Bioresource Technology*, v.184, p. 355-362, 2015.
- WATERMAN, K. C.; ADAMI, R. C. Accelerated aging: Prediction of chemical stability of pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 293, v.1-2, p. 101-125, 2005.
- WITTERN, K. P.; BRUMMER, R.; GODERSKY, S. Rheology Studies to Investigate Sensorial Aspects of Emulsions. In: IWASAWA, Y.; OYAMA, N.; KUNIEDA, H. (Ed.). *Studies in Surface Science and Catalysis*. Elsevier Science B. V., 2001. p. 1031-1036.
- YANG, Q.; GUY, R. H. Characterisation of skin barrier function using bioengineering and biophysical techniques. *Pharmaceutical Research*, v. 32, n. 2, p. 445-457, 2015.
- YASAR, F.; TOGRUL, H.; ARSLAN, N. Flow properties of cellulose and carboxymethyl cellulose from Orange peel. *Journal of Food Engineering*, v. 81, n. 1, p. 187-199, 2007.
- YOTSAWIMONWAT, S.; RATTANADECHSAKUL, J.; RATTANADECHSAKUL, P.; OKONOJI, S. Skin improvement and stability of Echinacea purpúrea dermatological formulations. *International Journal of Cosmetic Science*, v.32, n. 5, p. 340-346, 2010.

YOKOYAMA, S.; HIRAMOTO, K.; FUJIKAWA, T.; KONDO, H.; KONISHI, N.; SUDO, S.; IWASHIMA, M.; OOI, K. Skin Hydrating Effects of *Corchorus olitorius* Extract in a Mouse Model of Atopic Dermatitis. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, v. 4, n. 1, p. 1-6, 2014.

YOON, J. H.; BAEK, S. J. Molecular Targets of Dietary Polyphenols with Anti-inflammatory Properties. *Yonsei Medical Journal*, v. 46, n. 5, p. 585-596, 2005.

ZILLICH, O. V.; SCHWEIGGERT-WEISZ, U.; EISNER, P.; KERSCHER, M. Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 37, n. 5, p. 455-464, 2015.

**ANEXO A**



UNIVERSIDADE  
DE CUIABÁ

Registro: nº 041 CEP/UNIC – protocolo nº 2012-041

## COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/UNIC

### DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa: “**Desenvolvimento de Extratos de uma Planta Cultivada na Caatinga Nordestina e Avaliação da sua Eficácia Hidratante em Formulações Cosméticas**” do (a) pesquisador (a) **Gabriel Azevedo de Brito Damasceno** foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cuiabá - UNIC.

Cuiabá-MT, 04 de junho de 2012.

**Prof.<sup>a</sup> Ms. Margarete Lovato**  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa  
UNIC

UNIVERSIDADE DE CUIABÁ -  
UNIC



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação In vivo da eficácia de formulações cosméticas aditivadas com extratos vegetais por meio de técnicas de bioengenharia cutânea.

**Pesquisador:** Marclo Ferrari

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 12394513.5.0000.5165

**Instituição Proponente:**

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 195.680

**Data da Relatoria:** 07/02/2013

#### **Apresentação do Projeto:**

projeto dentro dos padrões científicos, com apresentação clara e bom detalhamento, procedimentos com bom rigor e boa técnica.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

##### **Objetivo Primário:**

Desenvolvimento de diferentes formas cosméticas aditivadas com extratos de plantas e avaliação In vivo da eficácia das mesmas por meio de metodologias de bioengenharia cutânea.

##### **Objetivo Secundário:**

Coleta dos espécimes vegetais e subsequente identificação; Avaliação da segurança dos extratos obtidos; Desenvolvimento de diferentes formas cosméticas contendo os extratos obtidos; Avaliação clínica do sensorial das formulações; Avaliação da estabilidade preliminar e acelerada das formulações em estudo; Avaliação In vivo do conteúdo aquoso do extrato córneo; Avaliação In vivo da perda de água transepidérmica; Avaliação In vivo da viscoelasticidade da pele; Avaliação In vivo do micro relevo cutâneo; Avaliação In vivo do potencial fotoprotetor quanto ao Fator de Proteção Solar (FPS) e Fator de Proteção UVA (FPUVA)

**Endereço:** Avenida Belmi Rio, 3100, Bloco de Saúde III, 2º piso

**Bairro:** Jardim Europa

**CEP:** 78.065-000

**UF:** MT

**Município:** CUIABÁ

**Telefone:** (65)3363-1023

**E-mail:** kelly.guimaraes@kroton.com.br



UNIVERSIDADE DE CUIABÁ -  
UNIC



**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Não há riscos aos voluntários

**Benefícios:**

Comprovação da eficácia cosmética

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto visa desenvolver diferentes formas cosméticas aditivadas com extratos vegetais dos biomas brasileiros buscando determinar a eficácia cosmética de hidratação, envelhecimento cutâneo e atividade fotoprotetora. O estudo da eficácia será realizado por meio de metodologias não invasivas de bioengenharia cutânea. O resultado esperado do projeto é obter informações que comprovem a eficácia cosmética dos extratos estudados,

sinalizando o uso para Indústria cosmética

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

foram cumpridos corretamente todos os termos obrigatórios

**Recomendações:**

sem recomendações

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

não há pendências

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O projeto atende a resolução nº 196/96 sendo o meu parecer favorável sem ressalvas a aprovação pelo CEP/UNIC.

CUIABÁ, 08 de Fevereiro de 2013

---

Assinador por:  
**Margarete Lovato**  
(Coordenador)

Endereço: Avenida Beira Rio, 3100, Bloco de Saúde III, 2º piso  
Bairro: Jardim Europa CEP: 78.065-000  
UF: MT Município: CUIABÁ  
Telefone: (65)3363-1023 E-mail: kelly.guimaraes@kroton.com.br

**ANEXO B**

&lt; Uso exclusivo do INPI &gt;



Espaço reservado para o protocolo

Espaço reservado para a etiqueta

Espaço reservado para o código QR



INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL  
Sistema de Gestão da Qualidade  
Diretoria de Patentes

<b>DIRPA</b>	Tipo de Documento:	Formulário	DIRPA	Página:	1/3	
	Título do Documento:	Depósito de Pedido de Patente		Código:	FQ001	
			Procedimento:	DIRPA-PQ006	Versão:	2

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:

O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas:

## 1. Depositante (71):

- 1.1 Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
 1.2 Qualificação: INSTITUIÇÃO DE ENSINO SUPERIOR  
 1.3 CNPJ/CPF: 24.365.710/0001-83  
 1.4 Endereço Completo: Av. Sen. Salgado Filho, 3000, Campus UFRN, Lagoa Nova  
 1.5 CEP: 59078-970  
 1.6 Telefone: (84) 3215-3918                      1.7 Fax:  
 1.8 E-mail: nit@reitoria.ufrn.br

 continua em folha anexa

2. Natureza:
- 
- Invenção
- 
- Modelo de Utilidade
- 
- Certificado de Adição

## 3. Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):

COMPOSIÇÕES COSMÉTICAS CONTENDO KALANCHOE BRASILIENSIS E SEU USO COMO PRODUTO HIDRATANTE.

 continua em folha anexa

4. Pedido de Divisão: do pedido Nº                      Data de Depósito:

5. Prioridade:
- 
- Interna (66)
- 
- Unionista (30)

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

Pais ou Organização do depósito	Número do depósito (se disponível)	Data de depósito

 continua em folha anexa