UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Desenvolvimento e avaliação de eficácia de formulações fotoprotetoras para a pele oleosa contendo extrato de *Anacardium occidentale*

Daiane Garcia Mercurio

Ribeirão Preto
2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Desenvolvimento e avaliação de eficácia de formulações fotoprotetoras para a pele oleosa contendo extrato de *Anacardium occidentale*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientada: Daiane Garcia Mercurio

Orientadora: Profª. Drª. Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 05/04/2012. A versão original encontra se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Mercurio, Daiane Garcia
Desenvolvimento e avaliação de eficácia de formulações fotoprotetoras para a pele oleosa contendo extrato de *Anacardium occidentale*. Ribeirão Preto, 2012.
148 p.; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.
Orientador: Maia Campos, Patrícia Maria Berardo Gonçalves

1. Caju 2. Cosméticos 3.Pele Oleosa 4. Fotoprotetor 5. Eficácia Clínica

FOLHA DE APROVAÇÃO

Daiane Garcia Mercurio
Desenvolvimento e avaliação de eficácia de formulações fotoprotetoras para a pele oleosa contendo extrato de *Anacardium occidentale*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientadora: Profª. Drª Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura:_____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura:_____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura:_____

Trabalho realizado no Laboratório de Tecnologia de Cosméticos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - Brasil

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Pedro e Roseli, pelo amor incondicional e por estarem sempre presentes em minha vida orientando-me, incentivando-me ao aprendizado constante e me apoiando na realização de todos meus sonhos.

À minha família, Daniela, Ana Laura, Maria Eduarda, Rodrigo, Joseane,Tiago, Jean, Maria, Rosa que me envolvem de amor, apoio e carinho.

Ao meu namorado, Murilo, meu grande amor e companheiro, exemplo de doação e dedicação. Obrigada por me proporcionar "objetivo, direção e felicidade".

Agradecimento Especial

À minha orientadora,
Patrícia M. B. G. Maia Campos,
Pela amizade, carinho, atenção
e zêlo tão especiais nesses anos.
A admiro pelo seu dinamismo,
por compartilhar sua sabedoria e
por tratar o conhecimento como arte.
Arte que vitaliza, renova, rejuvenesce.
Agradeço pelas oportunidades,
conselhos e motivações
que me proporcionaram grande
crescimento pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

À **Mariana Barbieri Alvarez Demets** pela grande ajuda, amizade, carinho e colaboração.

À **Tais Aleriana. W. Lucon** e **à Jirrah Pedro de Andrade** pela grande amizade e pela colaboração que foi essencial para o presente trabalho.

Ao **Flávio Bueno de Camargo Júnior** pela amizade, atenção e colaboração.

À **Prof.ª Drª Lorena Rigo Gaspar** pela solicitude e colaboração.

Aos amigos do Laboratório de Tecnologia de Cosméticos: **Ana Flora, Carolina, Karina, Josiane, Juliana, Marcella, Mariana, Mariane e Mirela,** agradeço pela amizade e companheirismo

Ao **João Carlos Simão**, agradeço pela colaboração prestada.

A todas voluntárias que participaram desse estudo, pela valiosíssima colaboração, que possibilitou a realização desse trabalho.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto pela oportunidade de realização deste mestrado.

À todos os professores da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, que contribuíram para minha formação.

Às empresas do segmento cosmético, que gentilmente forneceram matérias-primas empregadas nessa pesquisa.

À empresa Chemyunion pela colaboração no ensaio de fotoproteção.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de mestrado e apoio financeiro para apoio dessa pesquisa.

Às minhas amigas de república **Simone, Mariana e Madeleine** pela amizade e convivência.

Aos parentes e amigos que me acompanharam nessa jornada.

"Toda a ciência começa como filosofia e termina em arte"

RESUMO

MERCURIO, D. G. **Desenvolvimento e avaliação de eficácia de formulações fotoprotetoras para a pele oleosa contendo extrato de *Anacardium occidentale*.** 2012. 148f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012

A pele oleosa e acneica apresenta características diferenciadas e demanda o uso de produtos cosméticos adequados e que proporcionem benefícios específicos a esse tipo de pele. Nesse contexto, o extrato de caju (*Anacardium occidentale*), devido a sua rica composição, apresenta propriedades que podem promover benefícios para os cuidados da pele oleosa. Assim, o objetivo desse projeto foi desenvolver formulações fotoprotetoras estáveis contendo extrato glicólico de *Anacardium occidentale*, bem como a avaliação da eficácia clínica destas formulações para a melhoria das condições da pele oleosa. Para tal, foram desenvolvidas formulações fotoprotetoras com matérias primas compatíveis com a pele oleosa, as quais foram submetidas aos testes preliminares de estabilidade e, a mais estável foi selecionada para a avaliação da atividade *fotoprotetora in vitro*, a avaliação sensorial e avaliação de eficácia clínica dos efeitos imediatos (duas e quatro horas após aplicação) e em longo prazo (após 28 dias de aplicação diária das formulações). Foi realizada também a determinação do espectro de absorção do extrato de caju, avaliação da atividade antioxidante in vitro, e determinação do teor de polifenóis. Preliminar ao estudo de eficácia, foi realizado o estudo de caracterização e classificação dos tipos de pele por *score* dermatológico e com as técnicas avançadas de biofísica e análise de imagem. Dentre as formulações desenvolvidas, a que continha "Sodium Polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone e Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer como agentes emulsificantes e espessantes e "Octyl Stearate" como emoliente e agente dispersante do filtro físico, e "Sílica" e "Polymethyil Methacrylate" como pós modificadores de sensorial (F15), foi adicionada de 3,5% de extrato glicólico de caju (F15C) e foi estável nos testes preliminares de estabilidade. Na avaliação da atividade fotoprotetora in vitro a formulação apresentou FPS 50, Boost Factor "Bom" e comprimento de onda crítico acima de 370 nm. O extrato glicólico de caju apresentou atividade antioxidante dose dependente. A caracterização do tipo de pele demonstrou que o grupo com pele oleosa apresentou maior perda transepidérmica de água, maior aspereza e oleosidade. Além disso, a análise computacional de imagens mostrou diferenças quanto à secreção sebácea, poros e comedões nas regiões malar, queixo e nariz. Nos estudos de avaliação de eficácia, a formulação F15C apresentou melhores notas nos parâmetros relacionados à sensação ao toque, oleosidade, resíduo de brilho e suavidade, bem como na intenção de compra. Na avaliação dos efeitos imediatos, não foram obtidos efeitos no conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidérmica de água e nos parâmetros do microrrelevo. A formulação F15C apresentou retenção do conteúdo de sebo, comparada à formulação veículo após duas e quatro horas de aplicação da formulação. Na avaliação dos efeitos das formulações a longo prazo, a formulação proporcionou redução do número de poros no queixo e não proporcionou aumento de comedões e alterações significativas nos parâmetros: conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidermica de água, parâmetros do microrrelevo, secreção sebácea, contagem de glândulas sebáceas ativas. A formulação desenvolvida apresenta-se como um produto inovador e diferenciado, com eficácia e sensorial agradável e compatível ao uso na pele oleosa. Além disso, o extrato de caju melhorou ainda mais o sensorial da formulação e mostrou eficácia pré clínica com, potencial antioxidante, e eficácia clínica no controle da oleosidade e melhoria das condições da pele oleosa.

Palavras-chave: Caju, Cosméticos, Pele Oleosa, Fotoprotetor, Eficácia Clínica

ABSTRACT

MERCURIO, D. G. **Development and efficacy evaluation of photoprotective formulations for oily skin containing extract of *Anacardium occidentale***. 2012. 148f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Oily skin has different characteristics and demands the use of cosmetic products that provide adequate and specific benefits to this skin type. In this context, the cashew extract (*Anacardium occidentale*), due to its rich composition, has properties that can provide benefits for oily skin care. The objective of this project was to develop stable photoprotective formulations containing glycolic extract of *Anacardium occidentale*, as well as to evaluate the clinical efficacy of these formulations for the improvement of oily skin conditions. For this purpose, the photoprotective formulations were developed with raw materials compatible with oily skin, which were submitted to preliminary tests of stability, and the most stable was selected to evaluate the sunscreen activity *in vitro*, sensory evaluation and assessment of clinical efficacy in terms of immediate (two and four hours after application) and long term effects (after 28 days of daily application of the formulations). It was also determined the spectrum of absorption of the cashew extract, antioxidant activity evaluation in vitro, and determination of polyphenols. Before de efficacy evaluation, studies were conducted to characterize and classify skin types using dermatological score and advanced biophysical techniques and skin imaging analysis. Among the formulations developed, the one which contained "Sodium Polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone e Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer as emulsifiers and thickner agents and "Octyl Stearate" as an emollient and dispersing agent of the inorganic filter and "Silica" and 'Polymethyl Methacrylate " as sensory modifiers powders (F15), this formulation was added of 3.5% of Glycolic extract of cashew (F15C) and was stable in preliminary tests of stability. In the evaluation of in vitro sunscreen activity, the formulation showed FPS 50, Boost Factor classified as "Good" and critical wavelength above 370 nm. Cashew glycolic extract showed dose-dependent antioxidant activity. The characterization of the skin demonstrated that the group with oily skin showed higher transepidermal water loss, greater asperity and oiliness. Furthermore, computer analysis of images showed differences in the sebum, pores and comedones in the regions of the cheeks, chin and nose. In the sensory evaluation studies, the formulation F15C showed better scores on parameters related with touch, oiliness, smoothness, residual brightness, and showed higher purchase intent. No immediate effects were obtained in stratum corneum water content, transepidermal water loss and the parameters of microrelief. The formulation F15C presented retention of the sebum content compared with the formulation vehicle after two and four hours of application of the formulation. In the long-term effects study, the formulation provided a reduction in the number of pores on the chin and did not increase the comedones and didn't show significant changes in the parameters: stratum corneum water content, transepidermal water loss, parameters of the microrelief, sebum and counting active sebaceous glands. The formulation developed is presented as an innovative and efficient product with a pleasant sensory and compatible for use on oily skin. Furthermore, the cashew extract further improved the sensory properties of the formulation, showed antioxidant activity and clinical efficacy in the oil control and improvement of skin conditions.

Keywords: Cashew, cosmetics, oily skin, sunscreen, clinical efficacy

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1
2. REVISÃO DA LITERATURA 4
2.1 Pele 5
2.2 Caracterização 6
2.3 Pele Oleosa 8
2.4 Aplicação do *Anacardium occidentale* (Caju) em cosméticos 12
2.5 Fotoproteção 13
2.5.1 A radiação ultravioleta (UV) na pele 13
2.5.2 Desenvolvimento de fotoprotetores 15
2.5.3 Avaliação da atividade fotoprotetora 16
2.6 Eficácia Clínica de Cosméticos 17
2.6.1 A avaliação sensorial de produtos cosméticos 17
2.6.2 Técnicas de Biofísica e Análise de imagem da pele. 17
3. OBJETIVO 21
4. MATERIAL E MÉTODOS 23
4.1 Matérias-primas 24
4.2 Equipamentos e acessórios 25
4.3 Caracterização dos extratos 25
4.3.1 Determinação do espectro de absorção 25
4.3.2 Atividade antioxidante *in vitro* 25
4.3.3 Determinação de compostos fenólicos totais 26
4.4 Desenvolvimento das formulações 27
Sodium Polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone 29
Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (MBBT) 29
Sodium Polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone 30
4.5 Testes preliminares de estabilidade 30
4.5.1 Centrifugação 30
4.5.2 Determinação do pH 31
4.5.3 Avaliação visual 31

4.5.4 Determinação do FPS *in vitro* 31
4.5.4.1 Avaliação da Proteção UVB *in vitro* 32
4.5.4.2 Expressão e Interpretação dos Resultados 32
5. CASUISTICA E MÉTODOS 33
5.1 Triagem de Voluntárias 34
5.2 Descrição das Técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele aplicadas nesse estudo35
5.2.1 Determinação do Conteúdo Aquoso do Estrato córneo 35
5.2.2 Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL) 35
5.2.3 Determinação do micro-relevo cutâneo e contagem de comedões 35
5.2.4 Determinação do conteúdo lipídico 36
5.2.5 Glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo 36
5.2.6 Contagem de número de poros, ... 36
5.2.7 Avaliação da espessura da epiderme, e caracterização do tamanho e das características celulares de poros e comedões 37
5.3 Estudos clínicos realizados 38
5.3.1 Classificação e caracterização dos tipos de pele 38
5.3.1.1 Triagem das voluntárias 38
5.3.1.2 Classificação do tipo de pele 38
5.3.1.3 Medidas instrumentais 38
5.3.2 Padronização de técnicas de análise de imagem e para caracterização e contagem de poros e comedões 39
5.3.2.1 Triagem das voluntárias 39
5.3.2.2 Avaliação por técnicas de imagem da pele 39
5.3.3 Avaliação de Eficácia Clínica 40
5.3.3.1 Avaliação Sensorial 40
5.3.4 Avaliação de Eficácia Clínica 40
5.3.4.1 Triagem das voluntárias 40
5.3.4.2 Avaliação dos Efeitos imediatos 41
5.3.4.2.1 Avaliação utilizando técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele... 41
5.3.4.3 Avaliação dos Efeitos a longo prazo: 41
5.3.4.3.1 Avaliação utilizando técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele... 41
5.4 Delineamento estatístico 42
5.4.2 Efeitos imediatos 42
6. RESULTADOS 44
6.1 Caracterização das substâncias em estudo 45
6.1.1 Determinação do espectro de absorção 45
6.1.2 Avaliação do potencial antioxidante *in vitro* 45

6.1.3 Determinação de compostos fenólicos totais 45
6.2 Desenvolvimento das formulações 46
6.3 Testes preliminares de estabilidade das formulações 47
6.3.1 Centrifugação 47
6.3.2 Determinação do pH 47
6.3.3 Avaliação visual 48
6.4 Determinação da atividade fotoprotetora *in vitro* 48
6.5 Classificação e caracterização dos tipos de pele 49
6.5.1 Classificação do tipo de pele 49
6.5.2 Medidas instrumentais 49
6.5.2.1 Correlação entre perda transepidermica de água e conteúdo de sebo no infundíbulo 50
6.5.3 Avaliação por *Score* dermatológico 51
6.6 Padronização de técnicas de análise de imagem e para caracterização e contagem de poros e comedões 51
6.6.1 Avaliação da aspereza e rugosidade e contagem de comedões 51
6.6.2 Glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo 53
6.6.3 Contagem de número de poros 54
6.6.4 Avaliação da espessura da epiderme, contagem de comedões e caracterização celulares de poros e comedões. 55
6.6.5 Estudo de Correlação entre os parâmetros avaliados 58
6.7 Avaliação de Eficácia Clínica 60
6.7.1.1 Avaliação Sensorial 60
6.7.2 Avaliação de Eficácia Clínica por técnicas de biofísica e análise de imagem 61
6.7.2.1 Avaliação dos Efeitos imediatos 61
6.7.2.1.1 Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo 61
6.7.2.1.2 Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL) 62
6.7.2.1.3 Determinação do microrelevo cutâneo 63
6.7.2.1.4 Determinação do conteúdo lipídico 64
6.7.2.1.5 Glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo 65
6.7.3 Avaliação dos efeitos a longo prazo 66
6.7.3.1 Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo 66
6.7.3.3 Determinação do microrrelevo cutâneo e contagem de comedões 67
6.7.3.4 Determinação do conteúdo lipídico 70
6.7.3.5 Glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo 70
6.7.3.6 Contagem de número de poros 71
6.7.3.7 Avaliação e caracterização do tamanho e das características celulares de poros e comedões 73

6.7.3.8 Avaliação e caracterização do tamanho e das características celulares de poros e comedões..... 74

7. DISCUSSÃO..... 75

8. CONCLUSÃO 85

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 88

***APÊNDICES*..... 95**

***ANEXOS* 124**

1. INTRODUÇÃO

Além da função biológica e protetora, a pele saudável e com um bom aspecto é um fator essencial para o bem-estar e para um bom convívio social, sendo essa, alvo da aplicação de produtos cosméticos e tratamentos dermatológicos. No entanto, para a escolha do tratamento correto e seleção de matérias-primas adequadas para o desenvolvimento da formulação, cumpre salientar a importância da caracterização adequada do tipo de pele e do uso de produtos que sejam compatíveis com a biologia da pele, podendo assim, proporcionar o efeito esperado e evitar efeitos indesejáveis.

Dentre os tipos de pele existentes, a pele oleosa, que é caracterizada como a que apresenta grande quantidade de sebo, principalmente na face, necessita de cuidados especiais. A pele oleosa apresenta sinais clínicos que causam desconforto aos pacientes, como brilho excessivo, poros aumentados e acne, que, além do desequilíbrio do manto hidrolipídico, esses fatores apresentam impacto negativo na qualidade de vida nos indivíduos com esse tipo de pele. Assim, a condição especial dessa pele dificulta o uso diário de alguns produtos cosméticos, como os fotoprotetores, os quais, na maioria das vezes, apresentam filtros orgânicos lipofílicos em sua composição.

Considerando a importância do uso de fotoprotetores em todos os tipos de pele e idades, visando a prevenção de alterações cutâneas decorrentes do fotoenvelhecimento, o desenvolvimento de um fotoprotetor com alta proteção UVA/UVB para a pele oleosa é um grande desafio e envolve a caracterização desse tipo de pele e escolha de ingredientes não comedogênicos.

Uma vez que a tendência na área farmacêutica e cosmética é o desenvolvimento científico e tecnológico para o aproveitamento sustentável da biodiversidade brasileira, e que a inovação em insumos cosméticos é uma maneira efetiva de gerar valor agregado a estas matérias-primas oriundas do Brasil e gerar riquezas de maneira sustentável, os extratos vegetais vêm sendo cada vez mais utilizados em produtos cosméticos.

Neste contexto, destaca-se para a aplicação em formulações para a pele oleosa, o extrato de caju (*Anacardium occidentale*) que, devido a sua composição de ácidos anacárdicos, flavonóides, taninos, aminoácidos e vitamina C possui potencial para ser empregado em formulações com finalidades fotoprotetoras e para controle da oleosidade da pele. Assim, para o desenvolvimento de formulações estáveis e com eficácia comprovada contendo extrato de caju, a Pesquisa Clínica, envolvendo desde a caracterização da pele até as medidas instrumentais, por meio de equipamentos que envolvem alta tecnologia, é de fundamental importância para a obtenção de um produto efetivo às finalidades propostas.

Cumpre destacar que as técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele possibilitam a análise de alguns parâmetros tais como perda transepidérmica de água, conteúdo aquoso do extrato córneo, pH, conteúdo lipídico da pele e microrrelevo cutâneo. Além disso, a obtenção de imagens com equipamentos que envolvem alta tecnologia, que permitem a avaliação visual de características cutâneas não perceptíveis macroscopicamente, representa uma ferramenta adicional de grande valia para estudos clínicos.

Em síntese, o presente estudo adiciona importante contribuição na área em que se insere em relação à padronização de técnicas de biofísica e análise de imagem da pele para a caracterização da pele e a avaliação de produtos para a pele oleosa, bem como para o desenvolvimento de formulações fotoprotetoras estáveis e compatíveis com esse tipo de pele.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Pele

Entre todos os nossos órgãos, a pele ocupa uma posição única, e está em contato ao mesmo tempo com o meio externo e o meio interno. Devido a essa particularidade, exerce várias funções como: proteção contra microorganismos, substâncias e radiações lesivas; sensibilidade, manutenção da temperatura corporal; prevenção da excessiva perda de água, e produção de vitamina D (MAIA CAMPOS; MERCURIO, 2009).

A pele é constituída por três camadas: epiderme, derme e hipoderme. A epiderme é a camada mais externa, representando a barreira fisiológica de proteção, sendo constituída preferencialmente por queratinócitos, mas também possui outras células como melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A epiderme é dividida em diferentes camadas: a camada basal, camada mais profunda da epiderme, formada preferencialmente por células com intensa atividade mitótica que darão origem aos queratinócitos; a camada espinhosa, que ainda possui células com atividade mitótica, contém queratinócitos que podem ser identificados por expansões citoplasmáticas que contém tonofilamentos de queratina; e a camada granulosa, onde há achatamento dos queratinócitos; além da camada lúcida, presente em peles espessas; e o estrato córneo constituído por células achatadas, mortas, sem núcleos e citoplasma abundante em queratina, que pode apresentar alguma resistência ao impacto, além de impedir a perda transepidérmica de água (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A derme é a camada abaixo da epiderme, vascularizada constituída por tecido conjuntivo denso fibroelástico, que nutre a epiderme. Nessa camada estão presentes as raízes dos pelos, as glândulas, terminações nervosas, arteríolas e vênulas, alguns tipos de células, sendo a maioria fibroblastos e fibras de colágeno e elastina (EDWARDS; MARKS, 1995). O colágeno fornece a sustentação e previne o estiramento excessivo. A elastina permite a volta da pele após a distensão (MENON; KLIGMAN, 2009; MENON et al., 2007; PEDERNSON; JEMEC, 2006) .

A hipoderme é a camada mais profunda da pele, constituída principalmente por células de gordura denominadas adipócitos, que servem como depósito nutritivo de reserva, e participa do isolamento térmico e na proteção mecânica do organismo às pressões e traumatismos externos (BECHELLI; CURBAN, 1975).

A pele também possui na sua constituição apêndices cutâneos que são essenciais para a proteção e a manutenção da homeostasia. Dentre eles temos a glândula sebácea e a glândula

sudorípara, responsáveis pela produção de sebo e sudorese, respectivamente, e os pelos e unhas, para proteção (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

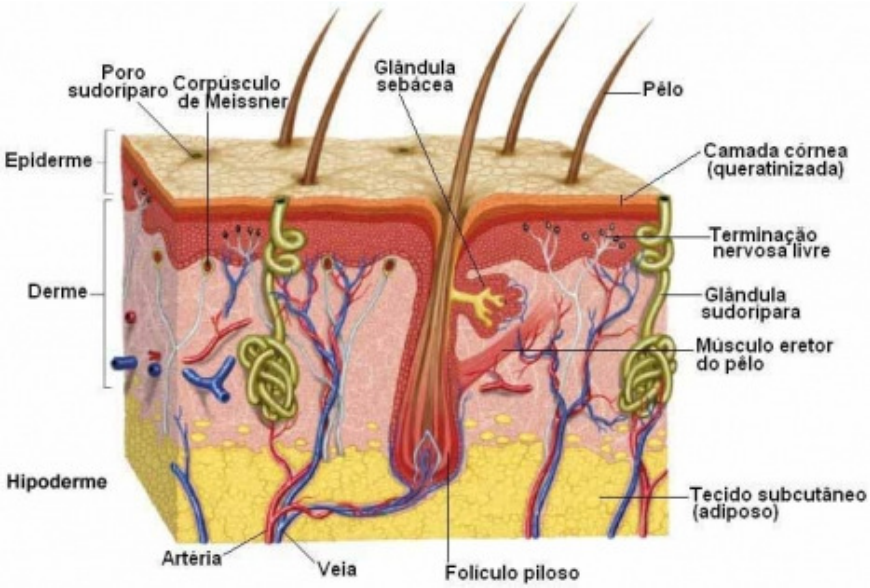


Figura 1 - Desenho esquemático da pele demonstrando suas camadas e anexos.

De acordo com a variedade de estruturas, funções e tecidos da pele, podemos destacar a importância da manutenção de uma pele saudável, com características que a permitam exercer sua função de proteção adequada.

Além disso, considerando que a pele é a interface com meio externo, essa também apresenta influência em fatores psicossociais, sendo alvo de tratamentos cosméticos e dermatológicos por alterações de caráter inestético que apresentam impacto na qualidade de vida. Assim, destaca-se a importância do conhecimento da biologia da pele para tratamentos e cuidados direcionados para sua real necessidade e para a manutenção da eudermia e melhoria do aspecto geral dessa.

2.2 Caracterização

A complexidade que envolve a fisiologia da pele torna um desafio a classificação e caracterização clínica dos tipos de pele. Diante disso, nos últimos tempos, vem sendo desenvolvidas estratégias para a classificação adequada e detalhada das diferentes características que compõem os tipos de pele.

No começo do século XX , Helena Rubstein passou a designar os quatro principais tipos de pele como seca, oleosa, mista e sensível. Em torno de 1990, Quiroga classificou a

pele como eudérmica, oleosa, alípica, desidratada, hidratada e mista, de acordo com as características secretórias (BAUMANN et al., 2009; QUIROGA;GUILLOT, 1996) .

Na clínica dermatológica, com a finalidade de indicar os produtos cosméticos adequados com o objetivo de melhorar as condições da pele como hidratação, proteção, clareamento de manchas, entre outros, os dermatologistas tem considerado outras características que incluem textura, hidratação, oleosidade, sensibilidade, tendência a manchas e rugas (ROBERTS, 2009).

Com a finalidade de adaptar a classificação dos tipos de pele com esta nova realidade, Leslie Baumann criou "The Baumann Skin Typing System", uma abordagem inovadora para a classificação dos tipos de pele baseado nos principais parâmetros da pele: Oleosa X Seca, Sensível x Resistente, Pigmentada x Não pigmentada, e Propensa a rugas X Firme (BAUMANN, 2008).

Atualmente, na clínica dermatológica e na classificação do uso direcionado de produtos dermatológicos, diferentes classificações vem sendo utilizadas.

A classificação mais tradicional é aquela que envolve pele normal, seca, oleosa e mista. O uso do termo "pele mista" é designado pelo tipo de pele que apresenta características diferentes em relação à produção de sebo. Geralmente este tipo de pele apresenta maior oleosidade na zona T (testa, nariz e queixo), quando comparada à região malar, mas deve-se considerar que as características desta pele podem ser alteradas por fatores emocionais, hormonais e ambientais (YOUN et al., 2005).

Considerando a importância da classificação do tipo de pele e a complexidade que envolve o assunto, é de grande interesse o desenvolvimento de métodos que permitam uma classificação mais precisa e detalhada facilitando assim o uso direcionado de produtos que atendam as reais necessidades do tipo de pele.

Uma das maneiras pela qual é possível "quantificar" a avaliação é dada por meio do uso de *score* clínico, ou seja, a determinação de parâmetros por um dermatologista, que os avalia de acordo com s*cores* previamente definidos (LODDE et al., 2001; HUMBERT et al., 2003).

Além disso, as técnicas de avaliação objetivas como as técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele podem fornecer informações quantitativas e de grande importância e, desse modo, podemos obter resultados detalhados das características cutâneas.

2.3 Pele Oleosa

A pele oleosa é caracterizada pelo excesso da produção de sebo, resultando em sinais clínicos como oleosidade, brilho excessivo, presença de poros abertos, comedões e lesões acneicas inflamatórias. O excesso de oleosidade pode ocasionar desde desconfortos psicológicos até problemas dermatológicos como a acne, situações que apresentam alto impacto na qualidade de vida (BALDWIN, 2002; YAZICI et al., 2004).

A oleosidade da pele está relacionada com a produção excessiva de sebo pelas glândulas sebáceas, que são normalmente encontradas em associação com um folículo piloso, o qual, em conjunto com a glândula, é referido como uma unidade pilossebácea (THIBOUTOT et al., 2008).

As glândulas sebáceas são classificadas como glândulas holócrinas, sendo que o sebo é uma secreção formada pela completa desintegração das células glandulares no duto folicular da unidade pilossebácea. A liberação do sebo representa um passo importante nos passos finais de diferenciação das células sebáceas especializadas, chamadas sebócitos, e é o resultado do acúmulo de lipídeos citoplasmáticos e subseqüente desintegração da célula e liberação do seu conteúdo no folículo (PICARDO et al., 2009).

Considerando o início da mitose das células na parte externa da glândula até a liberação, o processo de liberação de sebo dura até três semanas. O período entre a morte celular e a liberação do sebo para a superfície da pele dura em torno de oito dias, sendo que, quando o sebo entra no folículo piloso para ser liberado, demora 14 horas para aparecer na superfície da pele (DOWNING; STRAUSS, 1982; GREENE et al., 1970).

O sebo produzido pelas glândulas sebáceas é composto por triglicerídeos (20-60%), ésteres graxos (23-29%), esqualeno (10-14%), ácidos graxos livres (5-40%), colesterol e ésteres de colesterol(1-5%) e diglicerideos (1-2%) (Tabela 1). O sebo humano possui tanto ácidos graxos saturados quanto insaturados, com uma preponderância de insaturados. O tamanho da cadeia dos ácidos graxos do sebo humano varia consideravelmente, mas é predominantemente de 16 e 18 carbonos (esteárico, C18:0, oleico, C18:1Δ9, linoleico, C18:2 Δ9Δ12, palmitico, 16:0, sapienico, 16:1Δ6, e palmitoleico, C16:1Δ9) (PICARDO et al., 2009).

Tabela 1- Composição relativa do Sebo

Composição relativa do sebo		
Classe do lipideo	Faixa de concentração (%)	Média (%)
Triglicerideos	20-60	45
Ésteres graxos	23-29	25
Esqualeno	10-14	12
Ácido graxos livres	5-40	10
Colesterol e ésteres de esterol	1-5	4
Diglicerideos	1-2	2

Os lipídios secretados por essas glândulas apresentam várias funções, como a manutenção da integridade da barreira lipídica cutânea, transporte de antioxidantes para a superfície a da pele, atividade antimicrobiana e atividades pró e antiinflamatórias, geração do odor corporal e geração de ferohormônios (GREENE et al, 1970; DOWNING; STRAUSS, 1982; ZOUBOULIS, 2004).

As glândulas sebáceas estão distribuídas pelo corpo, apresentando maior quantidade no rosto e nas costas, e estão ausentes na palma das mãos e na planta dos pés. Sendo, que, na face, são em torno de 400-900 glândulas/cm². A quantidade de sebo produzida varia de acordo com a idade, sendo os níveis menores na infância, apresentando um aumento na adolescência e em jovens adultos (entre 20 e 30 anos) e depois diminui com a idade (STRAUSS et al., 1983; DAWBER, 1997; ZOUBOULIS, 2004).

Além da idade, outros fatores como a constituição genética do indivíduo, dieta, níveis de estresse e níveis hormonais influenciam na quantidade de sebo secretada na pele (BAUMANN, 2004). Os fatores extrínsecos como condições climáticas e região que o indivíduo se encontra também podem ser fatores determinantes da secreção sebácea (YOUN et al., 2005).

O funcionamento das glândulas sebáceas está relacionado também com alterações na fisiologia do folículo piloso, e junto com outros fatores pode levar a formação de sinais clínicos muitas vezes característicos da pele oleosa como poros aumentados, comedões e lesões inflamatórias acneicas (pápulas, pústulas e cistos).

O termo “poro” é designado como sendo características microfotográficas na superfície da pele correspondente às aberturas aumentadas dos folículos pilossebáceos (PIERARD et al., 2000), podendo, ou não, apresentar comedões em seu interior. Vários fatores podem estar relacionados com a formação de poros, tanto fatores endógenos, como exógenos, como predisposição genética, gênero, envelhecimento, hormônios, secreção

sebácea, acne, substâncias comedogênicas, e exposição crônica à radiação UV (UHODA et al., 2005) .

As causas da formação de poros podem estar relacionadas ao processo de hiperqueratinização do infundíbulo, a perda de componentes estruturais da derme, ou até mesmo por alterações na arquitetura da epiderme, relacionados com a espessura desta (MURAKAMI et al., 2006). Essa característica cutânea preocupa muitos pacientes com pele oleosa, devido ao seu caráter inestético, uma vez que essas estruturas são mais frequentes e visíveis na face.

Em relação às lesões acneicas, a acne é caracterizada por lesões não inflamatórias, comedões abertos e fechados a por lesões inflamatórias: pápulas, pústulas, nódulos e cistos.

O comedão fechado se caracteriza quando o sebo e células da pele bloqueiam a abertura do folículo, e se apresentam como pequenas saliências esbranquiçadas sob a superfície da pele enquanto que, o comedão aberto é uma lesão não inflamatória que está preenchida com excesso de óleo e células mortas. Neste caso, a superfície da pele fica aberta e o comedão fica com uma aparência escura, com coloração preta ou marrom na superfície (RAMLI et al., 2011).

As lesões acneicas inflamatórias são classificadas em pápulas, pústulas, nódulos e cistos. As pápulas, são as pequenas espinhas, as pústulas são as espinhas que apresentam pus visível, sendo esses tipos de lesões representam mais de 90 % dos casos de acne inflamatória. Um nódulo é similar a uma pápula, mas de tamanho maior e um cisto é caracterizado por lesões grandes, que geralmente se apresentam em maior profundidade na pele (SIMPSON et al., 2011).

Um dos eventos iniciais cruciais para a formação de poros e das lesões acneicas é a hiperqueratinização do folículo. O desenvolvimento da acne está relacionado a alteração da fisiologia estrutural do infundíbulo, ou seja, a região do folículo que corresponde desde a ducto de saída da glândula sebácea até o orifício externo do folículo (KUROKAWA et al., 2009).

O infundíbulo é revestido por uma camada de colágeno, chamada de camada vítrea, que dá sustentação. Na parte interior desta camada há uma camada de células basais que se proliferam e se diferenciam em queratinócitos, e no processo de hiperqueratinização há uma queratinização infunidibular anormal, que está associada com uma desordem na diferenciação terminal de queratinócitos, e com aumento de filagrina (KUROKAWA et al., 2009).

Eletromicroscopicamente, o padrão de hiperqueratinização demonstra retenção da hiperqueratose com número e tamanho aumentado de grânulos de queratohialina e acúmulo

de gotículas de gordura e dobras das escamas retidas como resultados do efeito da pressão. Diante disso, há um inchaço do ducto e consequente falta de oxigênio no ducto, tornando-se um ambiente inviável para a sobrevivência das células, no entanto, propício para o desenvolvimento de P*ropionarium acnes*. Neste ambiente, há também anóxia da camada granular do infundíbulo causando morte celular e levando a descamação das células. Com isso, há um acúmulo de sebo, queratina, e microorganismos no infundíbulo, caracterizando o comedão, e podendo causar inflamação (KUROKAWA et al., 2009).

O excesso da produção de sebo não está estritamente relacionado com a acne, uma vez que há pacientes com pele oleosa, que não desenvolvem acne. No entanto, a dermatite seborreica, o metabolismo lipídico anormal e as alterações na qualidade dos lipídeos podem levar a acne, e consequentemente, à presença de lipoperoxidação, diminuição de ácidos graxos insaturados e vitamina E, os quais podem ser fatores preponderantes para a acne (PICARDO et al., 2009). O processo de formação de lesões acneicas está demonstrado na Figura 2.

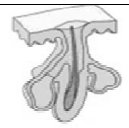
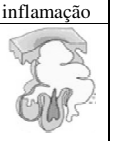
Foliculo Normal	**Microcomedão** Hiperqueratose Coesiva	**Comedão fechado** Aumento da produção de sebo	**Comedão aberto** Orificio do poro dilata	**Papula** Parde do foliculo afina p.acnes causa irritação	**Pustula ou cisto** Ruptura da parede do foliculo - ocorre inflamação
					

Figura 2 – Formação de comedões e lesões inflamatórias acneicas

É comum também um tipo de acne, denominado acne cosmética, conceito introduzido por Kligman e Mills (1972), que se refere a formação de lesões acneicas decorrente do uso de produtos cosméticos contendo certos ingredientes comedogênicos que vão interferir no equilíbrio hidrolipídico, sendo um fator agravante para a obstrução do folículo e formação de lesões acneicas (HUMBERT, 2002; DRAELOS; NICARDO, 2006).

Considerando que o excesso da produção sebácea prejudica a homeostasia causando um desequilíbrio na pele, há uma constante demanda na área cosmética e dermatológica para a pesquisa e desenvolvimento de produtos que previnam estas alterações, promovam a manutenção da eudermia da pele. Além disso, pode-se destacar a importância de produtos funcionais, que protejam a pele, como os filtros solares, e que não sejam um fator agravante para o desenvolvimento da acne cosmética.

Nesse contexto, peles que apresentam alta secreção de sebo, caracterizadas como pele oleosa, requerem os veículos utilizados apresentem menos conteúdo lipídico, com ingredientes não comedegênicos, uma vez que a aplicação de um veículo não adequado poderia favorecer o desenvolvimento da acne, efeito indesejável para o produto cosmético.

Matérias-primas oleosas como palmitato e miristato de isopropila, butilstearato, isoestearato de isopropila, estearato de isocetila, manteiga de cacau são considerados comedogênicos e portanto devem ser evitados neste tipo de formulações. Alternativas interessantes para estes ingredientes são o uso de emolientes não comedogênicos como o esqualeno, óleo de macadâmia e estearato de octila (MAIA CAMPOS; MERCURIO, 2012).

2.4 Aplicação do *Anacardium occidentale* (Caju) em cosméticos

Os extratos vegetais vêm sendo amplamente utilizados em produtos cosméticos devido à rica composição desses, os quais podem apresentar atividades hidratantes, antioxidantes, antiinflamatórias, suavizantes, emolientes, entre outras. O interesse de uso de extratos vegetais na área cosmética vem sendo cada vez maior, sendo a caracterização e o estudo de suas aplicações, fundamental para o seu uso correto e seguro em formulações cosméticas (DAL' BELO et al., 2006).

O caju (*Annacardium occidentale*) é uma planta nativa do Brasil, que apresenta grande importância socioeconômica para a região Nordeste. A castanha do caju e o líquido extraído de sua casca são produtos de exportação, sendo o pedúnculo (polpa) um subproduto, que ainda é pouco aproveitado perto da abundância de matéria-prima disponível (AGOSTINI-COSTAL et al., 2004).

A polpa do caju apresenta uma rica composição que envolve ácidos anacárdicos, flavonóides, taninos, aminoácidos e vitamina C (SILVA et al., 2009; AGOSTINI-COSTAL et al., 2004; FARIAS et al., 2009).

Os ácidos anacárdicos são constituintes que merecem atenção nessa espécie já que encontram-se em grandes quantidades no líquido extraído da castanha de caju e uma proporção menor no pedúnculo. Várias atividades biológicas foram atribuídas a estes compostos químicos como inibição de enzimas importantes como tirosinase, lipoxigenase, além da atividade antioxidante e antimicrobiana (KUBO et al., 2006).

A atividade antioxidante de substâncias em produtos cosméticos é de grande interesse uma vez que o uso destas substâncias pode promover benefícios únicos à pele, prevenindo o *stress* oxidativo e assim, atuando na manutenção da saúde da pele e prevenção do envelhecimento cutâneo.

Na pele oleosa, os radicais livres estão relacionados a processos inflamatórios e participam da formação de lesões acneicas, portanto, substâncias antioxidantes promovem um beneficio adicional a pele oleosa, atuando na prevenção e redução de lesões acneicas além da prevenção e retardo do envelhecimento cutâneo (MASAKI, 2010).

Estudos anteriores demonstraram o efeito antioxidante do caju por diferentes métodos de avaliação desta atividade. No estudo realizado por Cavalcante et al. (2003) foi realizada a avaliação da atividade antioxidante da polpa de caju, sendo avaliada a capacidade do suco de caju de seqüestrar radicais livres produzidos por 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), apresentando atividade antioxidante pronunciada, relacionada à presença de compostos polifenólicos, ácido tânico e vitamina C nas amostras estudadas.

O extrato de caju apresenta também em sua composição taninos, compostos com capacidade de adstringência, característica de grande interesse para produtos cosméticos destinados para a pele oleosa, devido à atribuição da atividade reguladora da secreção sebácea.

Os taninos tem sido descritos como adstringentes e com atividade constritora de poros na pele, sendo que vários extratos que possuem taninos em sua composição são utilizados com a finalidade de adstringência, como o extrato de Hamamelis, Barbatimão e Sálvia (BELE et al, 2010; DWECK; TOILETRIES, 1992; SMITH, 2006).

O excesso da produção de sebo na pele oleosa esta relacionada com aumento da expressão de lipoxigenase-5, enzima que participa da formação de mediadores inflamatórios contribuindo para o desenvolvimento de lesões acneicas (ALESTAS et al, 2006, ZOUBOULIS et al, 2003). Assim, o extrato de caju, por apresentar ácidos anacárdicos e potencial para inibição da enzima 5-lipoxigenase pode auxiliar na prevenção de lesões inflamatórias da acne (KUBO et al 2008; HA; KUBO, 2005).

Desta maneira, observa-se que o extrato de caju possui potencial para ser empregado em formulações para controle da oleosidade e prevenção da acne, destacando a importância da realização de estudos de eficácia para a avaliação dos reais efeitos de formulações contendo extrato de caju na pele.

2.5 Fotoproteção

2.5.1 A radiação ultravioleta (UV) na pele

A pele, por estar exposta ao ambiente, é suscetível a diversas agressões do meio, sendo a barreira física de proteção do corpo. Dentre as agressões, podemos destacar as causadas pela radiação ultravioleta proveniente da luz solar, e a proteção frente a esses danos vem sendo

uma preocupação constante na área cosmética e dermatológica devido aos seus efeitos deletérios.

Em exposições solares agudas, a radiação UV causa queimaduras solares, inflamação e conseqüentes danos no tecido, já a exposição a longo prazo está relacionada a depleção de células de *Langerhans*, imunossupressão local causando danos como fotoenvelhecimento e câncer de pele (GILABERTEA; GONZÁLEZ, 2010)

As radiações solares são classificadas em UVA, UVB e UVC, sendo a radiação UVC filtrada pela camada de ozônio. A radiação ultravioleta A (320-400 nm) possui grande capacidade de penetração na pele e está envolvida na maioria das reações fotoalérgicas, algumas reações fototóxicas, carcinogênese, fotoenvelhecimento cutâneo e reações de fotossensibilização (GILABERTEA; GONZÁLEZ, 2010; RIBEIRO, 2004).

O comprimento de onda da radiação UVB (290–320 nm) é bem menor e possui mais energia, penetra principalmente até a epiderme. A radiação UVB está envolvida nas reações fotocarcinogênicas como dano direto ao DNA e causando um déficit nas funções imunológicas da pele, esta ainda é responsável pelo eritema solar, estimula a pigmentação retardada, levando a morte de células epidérmicas e liberação de mediadores inflamatórios próprios da queimadura solar (GILABERTEA; GONZÁLEZ, 2010; RIBEIRO , 2004).

A radiação ultravioleta causa danos à pele por meio de mecanismos relacionados ao *stress* oxidativo, gerando espécies reativas de oxigênio, que incluem ânion superóxido, radical hidroxila, oxigênio singlete, e peróxido de hidrogênio, que podem desencadear maior formação de radicais livres.

O dano oxidativo, por sua vez, prejudica várias estruturas celulares como ácidos nucléicos, proteínas celulares, e lipídeos e também desencadeia diversas cascatas relacionadas a reações inflamatórias responsáveis pelo fotoenvelhecimento, induz a síntese de metaloproteinases que causam degradação de colágeno resultando em rugas, e causam disfunção de melanócitos originando alterações no padrão de pigmentação da pele (TOUITOU; GODIN, 2008).

Outra conseqüência a longo prazo da exposição excessiva à radiação ultravioleta, principalmente aos raios ultravioleta B, são neoplasias malignas da pele, que podem variar de danos pré cancerígenos como queratose solar actínica até cânceres invasivos como o melanoma (TOUITOU; GODIN, 2008).

A exposição crônica a radiação solar é a principal causa do envelhecimento extrínseco e é responsável pela maioria das alterações cutâneas, tais como rugosidade, rugas finas, alterações no padrão de pigmentação, vasodilatação, e perda da elasticidade da pele. Além

disso, na pele oleosa com tendência a acne, a radiação UV pode promover a retenção de sebo e formação de comedões, uma vez que a radiação UVB leva ao espessamento do estrato córneo e favorecer o processo de hiperqueratinização do infundíbulo (GUERRERO, 2010).

Diante da elucidação dos danos e conseqüências da radiação UV na pele, e da manifestação da importância da proteção frente à radiação UV, há uma intensa busca de medidas preventivas para evitar as conseqüências da exposição solar, sendo que na área dermocosmética, o desenvolvimento de formulações fotoprotetores seguras, estáveis e eficazes com alta capacidade de proteção e que se adéquem a biologia da pele ganha cada vez mais notoriedade.

2.5.2 Desenvolvimento de fotoprotetores

As formulações fotoprotetoras contem moléculas e complexos moleculares que podem absorver, refletir ou dispersar fótons UV. Com o desenvolvimento da ciência cosmética, a tendência no desenvolvimento de fotoprotetores são formulações que, além de prevenir, combatam e até mesmo reparem danos na pele induzidos pela radiação UV. Os efeitos protetores incluem absorção direta de fótons, inibição de inflamação crônica, modulação da imunossupressão, indução de apoptose e atividade antioxidante direta (HOJEROVÁ et al., 2011).

Além disso, tem se destacado a importância do desenvolvimento de fotoprotetores de amplo, espectro, ou seja, que apresentem absorção tanto na faixa UVA quanto na faixa UVB.

Nesse sentido, um aspecto relacionado ao fator de proteção solar estipulado que deve ser ressaltado é que o fator biológico determinante para o cálculo do FPS é o eritema causado pela radiação UVB e parcialmente pela radiação UVA em baixos comprimentos de onda, o valor de FPS não garante informação sobre a proteção contra UVA1 (longo comprimento de onda) que causam danos consideráveis a pele. Portanto, a declaração de um FPS alto que não oferece proteção UVA, pode dar uma falsa proposta de proteção (HOJEROVÁ et al., 2011).

Nesse contexto, recentemente os órgãos regulatórios internacionais lançaram novas diretrizes relacionadas à fotoproteção. De acordo com as normas do FDA (Food and Drug Administration), os fotoprotetores comercializados nos EUA precisam realizar um teste para avaliação do amplo espectro de ação, que mede a proteção UVA em relação á proteção UVB, os fotoproteores que apresentarem alta relação UVA/UVB podem então ser rotulados como fator de proteção de amplo espectro. Na Europa, as diretrizes estipuladas recentemente

também vão de encontro com a proposta americana, que evidencia a importância da proteção UVA.

2.5.3 Avaliação da atividade fotoprotetora

O estudo da atividade fotoprotetora teve início em 1963, com estudos realizados por Schulze, posteriormente, o conceito de fator de proteção solar foi popularizado por Franz Greiter, em 1984 (VELASCO et al., 2011).

Existem vários métodos na literatura para a avaliação da eficácia fotoprotetora, sendo que, no Brasil são geralmente empregados os testes preconizados pelo FDA (Food and Drug Administration Agency, 1999) e pela COLIPA (European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association do Scientific Committee on Cosmetology of the Comission of the European Union, 1994).

O princípio da avaliação do FPS *in vivo* consiste na razão entre o tempo de exposição à radiação UVB necessário para desenvolver eritema na pele protegida pelo fotoprotetor e o tempo com a pele desprotegida, sem aplicação de qualquer produto.

Para a avaliação UVA *in vivo* tem sido utilizado o FPA-PPD (Persistent Pigment Darkening). Esse princípio se baseia na resposta de pigmentação tardia (duas a quatro horas) ou persistente da pele frente à radiação UVA, pois seu escurecimento é uma das respostas mais imediatas a esse tipo de exposição (VELASCO et. al., 2011).

Tanto o FPS quanto o FPA-PPD são métodos que envolvem seleção de voluntários, custo elevado, e equipamentos de alto custo, dentre outras exigências, e as metodologias *in vitro* tem sido alternativas confiáveis e de grande interesse para a avaliação da atividade fotoprotetora. A metodologia *in vitro* de determinação do fator da eficácia fotoprotetora por transmitância difusa vem sendo muito utilizada, pois permite a análise espectral de 250 a 450nm. Esta metodologia *in vitro* é de grande interesse, uma vez que, permite a avaliação de filtros físicos e químicos (DIFFEY et al, 2000; VELASCO et, al., 2011).

Essa técnica apresenta dois detectores de arranjo de diodo com uma lâmpada de xenônio que emite flashes (otimizada para emissão UV) e uma esfera de integração fornecem aquisições espectrais instantâneas. A geometria de iluminação difusa da esfera mede a absorção de todos os ângulos e direções através da amostra e utiliza a energia total da lâmpada de xenônio para uma relação ótima de sinal/ruído (DIFFEY et al, 2000; VELASCO et, al., 2011).

Os resultados são fornecidos em forma de FPS, FPA, Comprimento de onde crítico e Boost Factor, fornecendo informações completas e detalhadas quanto a atividade fotoprotetora do produto, sendo este tipo de avaliação de grande interesse na etapa de desenvolvimento de produtos cosméticos (DIFFEY et al, 2000; VELASCO et, al., 2011).

2.6 Eficácia Clínica de Cosméticos

2.6.1 A avaliação sensorial de produtos cosméticos

As características sensoriais de uma formulação podem influenciar diretamante na escolha do produto e na adesão ao seuuso. Além disso, o usuário pode variar a forma de aplicação, a frequência de uso e a quantidade de produto utilizada, de acordo com a aceitação das características sensoriais deste (GOMES, et al., 1998).

Considerando a importância deste parametro na área cosmética, torna-se de grande valia a realização de estudos de avaliação sensorial, uma vez que, esses podem influenciar signifiactivamente no sucesso do produto, devido às percepções de qualidade para um formulador e um consumidor serem diferentes.

A qualidade avaliada por um formulador é baseada na estabilidade e confiabilidade que o produto permança nas condições originais. Para o consumidor, entretanto, a qualidade do produto, além da eficácia está relacionada à sensação de bem estar, e à percepção fisiológica de diferentes parâmetros sensoriais (TACHINARDI, 2005).

No desenvolvimento de produtos para a pele oleosa este tipo de avaliação é fundamental para a aceitação do produto. Características sensoriais indesejáveis como oleosidade, pegajosidade, consistencia inadequada são inaceitáveis para esse público, sendo caracteristicas determinantes para o sucesso, ou não, do produto.

2.6.2 Técnicas de Biofísica e Análise de imagem da pele.

A comprovação de eficácia é de extrema importância para a área de Pesquisa & Desenvolvimento de produtos cosméticos. A avaliação das condições da pele e dos efeitos de produtos cosméticos sobre essa, levou ao desenvolvimento de técnicas que pudessem avaliar os efeitos de forma objetiva, permitindo uma avaliação criteriosa da pele, e comprovando a eficácia do produto nas reais condições de uso, sem desconforto ao voluntário, obtendo dados objetivos e quantitativos das características e propriedades da pele, que é um sistema extremamente complexo.

Nesse contexto, as Técnicas de Biofísica e Análise de Imagem da Pele tem ocupado uma posição de destaque na avaliação de eficácia de produtos, uma vez que, permitem o estudo das características fisiológicas, mecânicas, funcionais e estruturais da pele, de forma não invasiva e nas reais condições de uso do produto.

O emprego constante de metodologias não invasivas para a avaliação dos efeitos de formulações cosméticas na pele gerou o desenvolvimento de diversos equipamentos para a avaliação de diferentes parâmetros. Dentre os parâmetros avaliados podemos mencionar o conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidérmica de água, pH, microrrelevo cutâneo, conteúdo de sebo, atividades de glândulas sebáceas (MAIA CAMPOS et al., 2008).

A quantidade de água presente na camada superior da epiderme, o estrato córneo, é mantida por um filme hidrolipídico presente nesta camada, que forma uma barreira protetora a qual evita a penetração de substâncias danosas ao organismo, protege a pele do ressecamento e mantém a sua flexibilidade (MAIA CAMPOS et al., 2008).

Dentre os métodos utilizados para avaliação do conteúdo aquoso do estrato córneo, o método da capacitância é o mais utilizado, pois utiliza corrente de baixa freqüência e é pouco afetado pela temperatura e umidade relativas (DAL'BELO et al., 2006).

Este é o método utilizado pelo Corneometer®(Courage Khazaka, Alemanha), equipamento que mede a capacitância de acordo com a constante dielétrica da água. O Corneometer® mede a profundidade de 10 a 20μm do estrato córneo. Uma lamina de vidro separa duas placas metálicas da pele, e quando aplicado sobre esta, é formado um campo elétrico, sendo que uma placa fica com a carga positiva e outra com a carga negativa, permitindo medir a constante dielétrica da água, que é convertida em unidades arbitrárias, equivalente ao conteúdo aquoso do estrato córneo medido (DAL'BELO et al., 2006).

O equipamento Tewameter® (Courage Khazaka, Alemanha), realiza medidas da perda transepidermica de água (em inglês, transepidermalwater loss – TEWL), que representa a evaporação de água pela pele, sendo que TEWL é utilizado para avaliar a integridade da barreira da pele humana para a perda de água insensível. A sonda do equipamento possui dois sensores, um de temperatura e outro de umidade, permitindo a obtenção de um valor determinada em g / h.m, assim, quanto menor o valor obtido menor a perda de água da pele e melhor a função barreira desta (LEONARDI et al., 2002).

Um parâmetro de grande interesse a ser avaliado na área cosmética são os parâmetros relacionados ao microrrelevo da pele. Esses parâmetros podem ser avaliados pelo equipamento Visioscan® VC98 (Courage Khazaka, Alemanha), que se baseia em uma representação gráfica da pele viva sob iluminação especial e avaliação da presente imagem de

acordo com parâmetros clínicos. O aparelho possui uma câmera que possui iluminação UVA e captura imagens de alta resolução da pele por profilometria óptica. A imagem obtida permite uma avaliação clara e criteriosa da pele, além disso, os parâmetros obtidos utilizando o software SELS (Surface Evaluation of Living Skin) permitem avaliação quantitativa de parâmetros como maciez, rugosidade, aspereza e descamação da pele (FERREIRA et al, 2010; LEONARDI et al., 2002).

A partir da câmera do Visioscan® VC 98 é possível obter também características relacionadas à secreção sebácea. Utilizando o Sebufix® F16 (Courage Khazaka, Alemanha), que são folhas contendo um polímero hidrofóbico, que, em contato com o óleo adquire transparência permitindo a avaliação do número e tamanho das manchas obtidas pela excreção de sebo do infundíbulo, obtendo o número de glândulas sebáceas ativas e a quantidade de sebo secretada por elas. A avaliação da imagem obtida é realizada pelo software SELS fornecendo parâmetros quantitaivos ,SELS (Surface Evaluation of the Living Skin) . Além disso, a imagem obtida pela câmera do equipamento permite a visualização de características cutâneas (DOBREV, 2007; UHODA et al., 2005).

Outro método utilizado para a avaliação da oleosidade da pele, é o Sebumeter® SM815 (Courage Khazaka, Alemanha), que, por meio de uma fita especial opaca, após o contato com o sebo da pele, que torna a fita transparente, e a transparência da fita é medida pelo reflexo da fonte de luz emitida sobre a fita. Quanto maior a transparência, maior a captação de luz. A luz transmitida permite avaliar o conteúdo de sebo na superfície da pele. Este equipamento tem sido muito utilizando para a caracterização dos tipos de pele, bem como avaliação de eficácia de produtos cosméticos e dermatológicos, medicamentos para o controle da oleosidade (DOBREV, 2007).

A avaliação, em conjunto destes diversos parâmetros permite a caracterização adequada da pele, bem como a avaliação do efeito de produtos cosméticos sobre essa.

As técnicas avançadas de Análise de Imagem vêm sendo cada vez mais utilizadas para a avaliação de sinais clínicos, características estruturais e da morfologia da pele (RAMLI, 2011).

O Visioface® é composto por uma câmera de alta resolução situada em uma cabine facial luz em que o voluntário coloca a face a é possível tirar uma fotografia de alta resolução com luz branca ou luz UV. O *software* acoplado (Visioface Quick®) permite avaliação de caracteristicas como poros, machas, manchas visíveis na luz UV. Esse equipamento tem sido muito utilizado para a avaliação dermatológica, e também é uma ferramenta de grande valia

para a avaliação de eficácia de produtos cosméticos, inclusive nos efeitos relacionados a melhoria de lesões acneicas (Courage and Kazaka, 2004).

O Microscópio Confocal de Reflectância VivaScope® (Lucid, Rochester, Estados Unidos) é um microscópio confocal de laser desenvolvido para a avaliação cutânea *in vivo*. Com esta técnica, a pele pode ser avaliada *in vivo*, quanto a características teciduais e celulares em resolução quase histológica.

A pele humana é um tecido opticamente não homogêneo que é principalmente impermeável à luz. No entanto, comprimentos de onda entre 600 nm e 1300 nm penetram a pele, e a imagem obtida pelo microscópio é refrente á reflexão da luz do tecido. O mapeamento do tecido é possível até uma profundidade de cerca de 350 µm, dependendo do tipo de pele (LONGO, 2011; BIELFELDTE et al, 2011).

Diferentes microestruturas da pele causam variações naturais do índice de refração e, portanto, fornecem contraste na imagem. Por exemplo, citoplasma com um índice de refração aproximando-se da água (1,33) é representado com um contraste muito baixo. A melanina e queratina apresentam índice de refração relativamente elevado (1,7) e funcionam assim como agentes naturais contrastantes (BIELFELDT et al, 2011).

Esse equipamento tem sido muito utilizado na dermatologia, na avaliação de alterações cutâneas como melanomas. O mesmo tem sido utilizado também na área de eficácia de cosméticos, principalmente para a avaliação de alterações cutâneas decorrentes do envelhecimento (BIELFELDT et al, 2011, LONGO et al, 2011).

As técnicas de Biofísica e de Análise de Imagem permitem o estudo e elucidação das propriedades da pele, e fornecem resultados conclusivos da avaliação de eficácia de produtos cosméticos. A aplicação de diferentes técnicas em conjunto permite realizar a correlação das diferentes características cutâneas fornecendo resultados de grande relevância científica.

3. OBJETIVO

O objetivo deste projeto foi desenvolver formulações fotoprotetoras estáveis contendo extrato glicólico de *Anacardium occidentale*, bem como a avaliação da eficácia clínica destas formulações para a melhoria das condições da pele oleosa.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matérias-primas

As matérias primas descritas estão de acordo com o INCI (International Nomemclatura of Cosmetic Ingredient) e quando necessário também está descrito o nome comercial e o fornecedor/ fabricante.

- Trilaureth-4 Phosphate, Hostaphat® KL 340
- Ácido gálico;
- Ácido acético;
- Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, Pemulen TR2 Polymeric Emulsifier – Lubrizol;
- Água destilada e deionizada;
- Água Milli-Q;
- Ammoniun Acryloyldimethyltaurate / VP Copolymer, Aristoflex® AVC - Pharmaespecial;
- *Anacardium occidentale* Extract - Mapric;
- Aqua and PEG-75 Lanolin, Solangel® 401 - Croda;
- Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, Tinosorb® S - Basf;
- BHT – Fluka;
- Butylene glycol – Unichem;
- C12-15 Alkyl benzoate, Crodamol® AB - Croda;
- Cyclopentasiloxane, DC 245® - Dow Cornig;
- Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate, Uvinul® A Plus – Basf;
- Dimethicone/Vinyl Dimethicone Crosspolymer (and) Silica, DC 9701® – Dow Corning;
- Disodium EDTA - Ciba;
- Ethylhexyl Triazone, Uvinul® T 150 – Basf;
  Enzima HRP (horseradish peroxidase) - Sigma-Aldrich;
  Fosfato de sódio bibásico - Sharlau;
  Glycerin – Synth;
  Luminol - Sigma-Aldrich;
- Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (MBBT), Tinosorb® M – Basf;
- Octyl Methoxycinnamate, Uvinul® MC 80 – Basf;
- Octyl Stearate, Cetiol® 868 – Pharmaespecial;
- PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Eumulgin® HRE 40 – Cognis;
- PEG-5 Ceteth-20, Procetyl® AWS – Mapric;
- Phenoxyethanol, methylparaben, ethylparaben, butylparaben, propylparaben, isobutylparaben, Undebenzofene-C® - Vevy;
- Polymethyl Methacrylate, Ganzpearl® GM 0600 – Lipo;
- Sodium Polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone, DC RM 2051® – Dow Corning;
- Silica, Spheron L-1500® – Lipo;
- Solução de carbonato de cálcio.
- Titanium dioxide, Dióxido de Titânio TT rutilo – Galena;

4.2 Equipamentos e acessórios

- Agitador mecânico, Heidolph®, RZR 2021;
- Balança analítica Ohaus, modelo AS 200;
- Balança eletrônica Marte, modelo AS 2000;
- Centrífuga Centribio, modelo 80-2B, freqüência 60Hz ;
- Centrífuga - Excelsa Baby II, modelo 206-R;
- Chapa de aquecimento;
- *Corneometer® CM 825* (Courage-Khazaka, Alemanha);
- Espectrofotômetro Hitachi U-2001;
- Frascos para aliquotagem, Eppendorf®;
- Luminômetro Autolumat LB953 EG&G Berthold;
- Peagâmetro, Digimed®, modelo DM 20;
- *pHmeter ®PH 900 PC* (Courage Khazaka, Alemanha);
- *Sebufix® F16* (Courage Khazaka, Alemanha);
- *Sebumeter® SM 815* (Courage-Khasaka, Alemanha);
- Termômetro;
- *Tewameter® TM 210* (Courage-Khasaka, Alemanha);
  Visioscan® VC 98 (Courage-Khasaka, Alemanha);
- *Visioface®* (Courage Khazaka, Alemanha);
- *Vivascope* ®1500 (Lucid, Estados Unidos);
- Vidrarias em geral;
- Placa de polimetilmetacrilato (PMMA);
- Seringa descartável.

4.3 Caracterização dos extratos

4.3.1 Determinação do espectro de absorção

Soluções do extratos glicólico de caju foram diluídas em água destilada (1:10) e analisadas em espectrofotômetro Hitachi U-2001 na faixa de 200 a 400nm para a obtenção do espectro de absorção.

4.3.2 Atividade antioxidante *in vitro*

No presente estudo, o potencial antioxidante *in vitro* do extrato glicólico de caju foram investigados pelo método da quimioluminescência dependente de luminol.

Este método baseia-se na detecção de fótons emitidos pelo luminol quando este é oxidado pelo peróxido de hidrogênio em presença de um catalisador, no caso pela enzima HRP (horseadish peroxidase). Nessa reação, forma-se um intermediário reativo e quando esse produto excitado retorna ao seu estado fundamental emite fótons, os quais são capturados pelo equipamento (SANTOS; SANTOS, 1993).

Quanto maior o sinal captado pelo equipamento, maior a produção de radicais livres. Assim, a adição de uma substância antioxidante faz com que os radicais livres sejam neutralizados, resultando em uma menor emissão de fótons e, conseqüentemente, uma menor intensidade de sinal é detectada pelo equipamento (CHENG et al., 2003).

Inicialmente, foram feitas diluições seriadas em tampão das amostras de extrato glicólico de caju a partir do extrato puro. A partir do extrato puro, foram realizadas diluições, obtendo as concentrações: 50%, 25%, 12,5%,6,25% e 3,125% (v/v).

Para a realização dos experimentos foram adicionados em frascos de aliquotagem., alíquotas de 10 µL do extrato puro, das soluções obtidas em diferentes concentrações e de uma solução controle contendo apenas tampão. Todas as concentrações foram acrescidas de 400µL de tampão fosfato 0,1M (pH 7,4), 100µL H2O2 e 10µL de solução de luminol (5mg/mL). A reação foi iniciada pela adição de 500µL de solução (0,2 UI/mL) de HRP e a quimioluminescência foi quantificada utilizando-se o luminômetro Autolumat LB953 EG&G Berthold (LUCISANO-VALIM et al., 2002; CHENG et al., 2003; MAIA CAMPOS et al., 2006). A concentração final obtida dos extratos nesta solução nos frascos de aliquotagem é de 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%,0,0625% e 0,03125% ou seja, 10,06 mg/ml; 5,03 mg/ml; 2,415 mg/ml; 1,275 mg/ml; 0,6375 mg/ml; 0,31875 mg/ml.

Os resultados, obtidos em triplicata para cada amostra, foram expressos em área sobre a curva (AUC) representando assim o total de EROs produzidos em 10 minutos a 30ºC. A porcentagem de inibição para cada composto foi calculada com a seguinte equação (GEORGETTI et al., 2003):

$$\text{Taxa de inibição } (\%) = 100 - \left(\frac{100 \text{ x AUC}_{\text{amostra}}}{\text{AUC}_{\text{controle}}} \right)$$

Sendo AUCamostra = área sob a curva da amostra e AUCcontrole = área sob a curva do controle.

Através do cálculo da porcentagem de inibição de cada solução, com diferentes concentrações de extrato, pôde-se encontrar a concentração de extrato que inibe 50% a produção de radicais livres (IC50).

4.3.3 Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação de fenóis totais no extrato de caju em estudo foi feita por meio de análise espectrofotométrica na região do visível, utilizando o método de Folin-Ciocalteu (SLINKARD; SINGLETON, 1977).

Para a realização deste estudo, foram preparadas soluções aquosas de ácido gálico em concentrações de 100 a 1000 µmol/L, em triplicata, para posterior construção de uma curva de calibração. Sequencialmente, em triplicata, foram preparados os meios reacionais em tubos de plástico com a adição de 10µL de cada amostra (extrato, solução padrão ou água – branco) , 40µL de água Milli-Q, 50µL de ácido acético (7%), 50µL de Folin-Ciocalteu em água Milli-Q (1:5). Passados três minutos, foram adicionados 50µL de uma solução saturada de carbonato de cálcio e 800µL de água Milli-Q.

Todos os estes tubos foram armazenados na ausência de luz durante 90 minutos. Com o término do período de armazenamento, 200µL de cada analito foram adicionados em um poço de uma microplaca, que foi, então, introduzida em um espectrofotômetro para leitura da absorbância a 725nm.

4.4 Desenvolvimento das formulações

Foram preparadas em agitador Heidolph, RPZ 2021, à agitação de 1200rpm durante 30 minutos, formulações a base de polímeros hidrofílicos (Ammoniun Acryloyldimethyltaurate / VP Copolymer, Aristoflex® AVC – Pharmaespecial e Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, Pemulen TR2 Polymeric Emulsifier – Lubrizol), emolientes (C12-15 Alkyl benzoate, Crodamol® AB – Croda; Aqua and PEG-75 Lanolin, Solangel® 401 – Croda e Octyl Stearate, Cetiol® 868 – Pharmaespecial), emulsionante (PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Eumulgin® HRE 40 – Cognis), filtros solares (Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, Tinosorb® S – Basf; Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate, Uvinul® A Plus – Basf; Ethylhexyl Triazone, Uvinul® T 150 – Basf; Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (MBBT), Tinosorb® M – Basf; Octyl Methoxycinnamate, Uvinul® MC 80 – Basf e Titanium dioxide, Dióxido de Titânio TT rutilo – Galena), umectantes (Glycerin – Synth e Butylene glycol – Unichem), conservante (Phenoxyethanol, methylparaben, ethylparaben, butylparaben, propylparaben, isobutylparaben, Undebenzofene-C® - Vevy), agente quelante (Disodium EDTA - Ciba), antioxidante (BHT – Fluka), silicones (Dimethicone/Vinyl Dimethicone Crosspolymer (and) Silica, DC 9701® – Dow Corning; Cyclopentasiloxane, DC 245® - Dow Corning e Sodium Polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone, DC RM 2051® – Dow Corning) e pós modificadores de sensorial (Polymethyl Methacrylate, Ganzpearl® GM 0600 – Lipo e Silica, Spheron L-1500® – Lipo).

O protocolo de desenvolvimento das formulações consistiu basicamente de três etapas, sendo uma delas a escolha do sistema emulsificante (etapa 1), a outra, a escolha e a forma de

incorporação do filtro físico nas formulações variando a substância utilizada para dispersar o pó (etapa 2), e a última, a escolha da concentração de pós modificadores sensoriais (etapa 3). Exceto na formulação 6, onde o dióxido de titânio foi incorporado na fase aquosa, antes do processo de emulsificação, este foi incorporado imediatamente após a emulsificação durante o processo de agitação, e posteriormente foi adicionado os pós modificadores de sensoriais.

As formulações desenvolvidas nas etapas 1, 2 e 3 encontram-se na Tabela 2, na Tabela 3 e

Tabela **4**, respectivamente.

Tabela 2- - Formulações desenvolvidas na etapa 1 - escolha do sistema emulsificante

Matérias-primas	**Concentração das matérias-primas % (p/p)**			
	F1	**F2**	**F3**	**F4**
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	2,5	2,5	2,5	2,5
Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	2,2	2,2	2,2	2,2
Ethylhexyl Triazone	1,8	1,8	1,8	1,8
Octyl Methoxycinnamate	4,7	4,7	4,7	4,7
PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	5	4	-	-
Sodium Polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone	-	5	-	5
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	-	-	0,2	0,2
Ammoniun Acryloyldimethyltaurate / VP Copolymer	1,0	-	-	-
Butylene glycol	2,5	2,5	2,5	2,5
Glycerin	2,5	2,5	2,5	2,5
Phenoxyethanol, methylparaben, ethylparaben, butylparaben, propylparaben, isobutylparaben	0,8	0,8	0,8	0,8
Disodium EDTA	0,2	0,2	0,2	0,2
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05
Água deionizada qsp	100	100	100	100

Tabela 3– Formulações desenvolvidas na etapa 2 - incorporação dos filtros físicos

Matérias-primas	**Concentração das matérias-primas % (p/p)**								
	F5	**F6**	**F7**	**F8**	**F9**	**F10**	**F11**	**F12**	**F13**
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
Ethylhexyl Triazone	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Octyl Methoxycinnamate	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
Sodium Polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Butylene glycol	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Glycerin	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Aqua and PEG-75 Lanolin	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0
Titanium dioxide	1,5	1,5	-	1,0	1,5	1,5	1,5	1,0	1,5
Dióxido de Titânio (revest silicone)	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-
Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (MBBT)	-	-	-	1,0	-	-	-	1,0	-
PEG-5 Ceteth-20	-	-	-	-	1,5	-	-	-	-
Trilaureth-4 Phosphate	-	-	-	-	-	1,5	-	-	-
Octyl Stearate	-	-	-	-	-	-	3,0	3,0	3,0
Phenoxyethanol, methylparaben, ethylparaben, butylparaben, propylparaben, isobutylparaben	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Disodium EDTA	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Água deionizada qsp	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Tabela 4 – Formulações desenvolvidas na etapa 3- Incorporação dos pós modificadores de sensorial

Matérias-primas	Concentração das matérias-primas % (p/p)				
	F14	**F15**	**F16**	**F14C**	**F15C**
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
Ethylhexyl Triazone	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Octyl Methoxycinnamate	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
Sodium Polyacrylate (and) Dimethicone (and) Cyclopentasiloxane (and) Trideceth-6 (and) PEG/PPG 18/18 Dimethicone	5	5	5	5	5
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Butylene glycol	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Glycerin	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Aqua and PEG-75 Lanolin	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Titanium dioxide	1,5	1,5	-	1,5	1,5
Octyl Stearate	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Phenoxyethanol, methylparaben, ethylparaben, butylparaben, propylparaben, isobutylparaben	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Polymethyl Methacrylate	1	1,5	2,0	1	1,5
Silica	1	1,5	2,0	1	1,5
Cyclopentasiloxane	1	1,5	2,0	1	1,5
Disodium EDTA	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Anacardium occidentale Extract				3,5	3,5
Água deionizada qsp	100	100	100	100	100

As formulações F13, F14, F15 foram adicionadas de 3,5% de extrato de *Anacardium occidentale* para a realização dos testes preliminares de estabilidade.

4.5 Testes preliminares de estabilidade

4.5.1 Centrifugação

Neste teste preliminar de estabilidade, 3 gramas de cada formulação elaborada foram centrifugadas a 3000rpm, por 30 minutos em centrífuga Excelsa Baby II, modelo 206-R, potência 0,0440, Fanem. A centrifugação foi realizada 24 horas após a preparação (MAIA CAMPOS; BADRA, 1992).

4.5.2 Determinação do pH

A medida de pH foi realizada em peagâmetro Digimed®, modelo DM 20, utilizando-se amostras diluídas em água destilada (10%) , 24 horas e 28 dias após a preparação das formulações F13, F13C, F14, F14C, F15 e F15C. (MAIA CAMPOS; BADRA, 1992).

4.5.3 Avaliação visual

As amostras da formulação F13, F13C F14, F14C, F15 e F15C foram observadas visualmente quanto às seguintes alterações: cor, separação de fases, homogeneidade, diariamente no período de 7 dias e semanalmente no período de 28 dias às temperaturas de 25°C, 37°C e 45°C.

4.5.4 Determinação do FPS *in vitro*

O produto-teste foi aplicado sobre a placa de PMMA (polimetilmetacrilato) com área de aproximadamente 25 cm^2. A aplicação foi feita de forma padronizada, com auxílio de seringa descartável de 1 mL, na razão de 0,75 mg/cm^2, de modo a garantir uma distribuição homogênea. Depois da aplicação, o substrato permaneceu em repouso por 30 minutos, (protegido da luz), para ser seco antes da realização das leituras. A leitura foi realizada em 6 pontos de cada placa de PMMA (triplicata). O software integrado ao equipamento calcula o percentual de absorção, razão UVA/UVB e comprimento de onda crítico.

A metodologia de avaliação de percentual de absorção UVA permite quantificar a absorção média nos comprimentos de onda na região do ultravioleta-A (320-400 nm). A Metodologia *Boot's Star Rating* é baseada no cálculo da razão UVA/UVB, e o nível de proteção UVA do produto-teste é expresso em termos de pontuação de estrelas. O comprimento de onda crítico (λc) avalia a uniformidade do espectro (UVA/UVB) de proteção do produto. Os cálculos para a razão UVA/UVB e λc são independentes da absorbância obtida no intervalo de leitura espectral, sendo assim independentes da concentração do produto no substrato e consequentemente da lei de Lambert-Beer. Portanto, é preciso associar os dados da razão UVA/UVB e do λc com a absorção média a fim de se ter uma interpretação consistente.

4.5.4.1 Avaliação da Proteção UVB *in vitro*

A medida da proteção UVB *in vitro* consiste em avaliar a transmitância do substrato (PMMA) com e sem produto. As leituras foram realizadas em 6 pontos de cada substrato em triplicata.

4.5.4.2 Expressão e Interpretação dos Resultados

O λc é expresso em nanômetros (nm) e valores acima de 370nm apresentam amplo espectro de absorção (UVA/UVB), sendo calculado como se segue:

$$R = \frac{\int_{290nm}^{\lambda} A\lambda d\lambda}{\int_{290nm}^{400nm} A\lambda d\lambda}$$

Onde:

- Aλ = Absorbância
- dλ = Intervalo de comprimento de onda (1 nm)
- R = Primeiro valor da razão onde é ≥0,9 (90% da área do gráfico)

Na metodologia Boot's Star, a razão UVA/UVB calculada é expressa em formas de pontuação de estrelas, conforme a **Erro! Fonte de referência não encontrada.**Tabela 5. A razão UVA/UVB é calculada como se segue:

$$\frac{\alpha UVA}{\alpha UVB} = \frac{\int_{320nm}^{400nm} A\lambda d\lambda}{\int_{290nm}^{320nm} A\lambda d\lambda}$$

Onde:

- Aλ = Absorbância
- dλ = Intervalo de comprimento de onda (1 nm)

Tabela 5- Razão UVA/UVB e pontuação Boot's Star.

Razão UVA/UVB	Boot's Star	Categoria de Proteção UVA
0 a 0,20	-	**No claim**
0,21 a 0,40	*	**Minimum**
0,41 a 0,60	**	**Moderate**
0,61 a 0,80	***	**Good**
0,81 a 0,90	****	**Superior**
>0,91	*****	**Ultra**

5. CASUISTICA E MÉTODOS

Os estudos clínicos foram divididos em três etapas, sendo que as duas primeiras foram realizadas para caracterizar a pele oleosa, padronizar as técnicas para a avaliação neste tipo de pele e fornecer embasamento para avaliar os efeitos da formulação na pele oleosa nos estudos de eficácia clínica. Os três estudos estão descritos a seguir:

- Classificação e caracterização dos tipos de pele: consiste na avaliação dermatológica e classificação do tipo de pele e avaliação das características desta utilizando técnicas não invasivas.
- Padronização de técnicas de análise de imagem e para caracterização da pele e contagem de poros e comedões.
- Avaliação de Eficácia Clínica das formulações desenvolvidas – Avaliação por medidas instrumentais e avaliação sensorial.

Os testes foram realizados após 15 minutos de aclimatação em ambiente com controle de temperatura (20-22ºC) e de umidade relativa do ar (45 – 55%).

5.1 Triagem de Voluntárias

Todas voluntárias participantes dos estudos foram orientadas sobre os objetivos e métodos da pesquisa (Anexo B) e, concordando em participar da mesma, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Protocolo nº 234. - CEP/FCFRP – Anexo A) elaborado segundo a declaração de Helsinque e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Resolução 196/96 do Ministério da Saúde, CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE, 1996).
Os voluntários serão selecionados de acordo com os seguintes critérios de exclusão:
- Gravidez ou amamentação.
- Sinais de uma doença de pele ou doenças sistêmicas com efeitos comprovados para a pele.
- Voluntários em tratamento com os seguintes medicamentos: corticóide, anti histamínico, tratamento de hiper ou hipotireoidismo, diurético, antibiótico, analgésico, β bloqueadores, anticoagulante e terapia imunossupressora.
- Voluntários que realizaram cirurgia cosmética, peeling, dermoabrasão eletrocoagulação, laser, cirurgia ou escleroterapia nos últimos 6 meses, na região de estudo.
- Voluntários afirmando ter sido exposto ao sol durante os dias que antecederam o estudo e / ou ter um bronzeado persistente.
- Voluntários com lesões, feridas, cicatrizes, tatuagens ou piercings na região do estudo.

- Voluntários declarantes fumantes.

-Voluntários com dor de cabeça ou febre durante a visita.

5.2 Descrição das Técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele aplicadas nesse estudo

5.2.1 Determinação do Conteúdo Aquoso do Estrato córneo

Para a determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo foram realizadas 5 medidas em cada região de estudo, utilizando o equipamento Corneometer® CM 825 (Courage-Khazaka, Alemanha). O princípio de medida do Corneometer® é baseado na medida de capacitância de um meio dielétrico, sendo que qualquer alteração na constante dielétrica em função da hidratação da pele altera a capacitância do dispositivo presente na sonda do Corneometer®. As medidas são realizadas na região mais superficial do estrato córneo (10-20 micro) e os resultados são dados em unidades arbitrárias (UA) pelo próprio equipamento em função do conteúdo aquoso do estrato córneo (LEONARDI et al., 2002).

5.2.2 Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL)

Para este estudo foi utilizado o equipamento Tewameter®TM 300 (Courage-Khazaka, Alemanha), cuja função é medir a evaporação de água da superfície da pele, baseado no principio de difusão descrito por Adolf Fick em 1885:

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

Onde dm/dt é o fluxo de difusão, A é a área, dc/dx é a alteração da concentração por distância e D é o ceficiente de difusão de vapor de água no ar. Os valores são dados em $g.\ m^{-2}.h^{-1}$(DAL BELO; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2006).

A sonda permanceu em torno de 20seg sobre a pele da voluntária e obteve-se o valor médio de TEWL.

5.2.3 Determinação do micro-relevo cutâneo e contagem de comedões

Para a determinação do microrrelevo cutâneo foi utilizado o equipamento Visioscan® VC 98 (Courage Khazaka, Alemanha), o qual avalia as características da superfície da pele por meio de técnicas de profilometria óptica, que utilizam um processo de digitalização de

imagem obtida por uma câmera de vídeo equipada com uma unidade que emite luz ultravioleta, sendo investigados os parâmetros relacionados à rugosidade da pele (Rt) bem como parâmetros relacionados à textura (SEr), descamação (Sesc) e maciez da pele (SEsm) , calculado pelo software SELS (Surface Evaluation of the Living Skin). As imagens foram utilizadas para a contagem de comedões, que é definido por pontos pretos característicos nas regiões de estudo,para tal, foram obtidas imagens em triplicata. A contagem foi realizada utilizando o *software* Image J® (DE PAEPE et al., 2000; KOH et al., 2002).

5.2.4 Determinação do conteúdo lipídico.

O conteúdo lipídico foi determinado por um equipamento fotométrico (Sebumeter® SM815, Courage Khazaka, Alemanha). Uma fita especial opaca foi colocada sobre a pele por 30s com uma leve pressão para a coleta do sebo. A transparência da fita foi medida e os valores fornecidos representam a quantidade de sebo na pele (DOBREV, 2007).

5.2.5 Glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo

A atividade das glândulas sebáceas foi avaliada utilizando o Sebufix® F16 (Courage Khazaka, Alemanha), que são folhas contendo um polímero hidrofóbico, que, em contato com o óleo adquire transparência permitindo a avaliação do número e tamanho das manchas obtidas pela excreção de sebo do infundíbulo. A fita foi colocada em contato com as regiões estudadas por 20 segundos o sebo absorvido se tornaram visíveis como pontos transparentes de diferentes tamanhos. Com essas informações é possível obter o número de glândulas sebáceas ativas e a quantidade de sebo secretada por elas. A imagem é obtida utilizando a câmera Visioscan® VC 98 e analisada com o software SELS (Surface Evaluation of the Living Skin) (DOBREV, 2007).

5.2.6 Contagem de número de poros,

Para a contagem de número de poros da pele foi utilizado o Visioface®(Courage Khazaka, Alemanha), um sistema para obtenção de fotos do rosto, em alta definição, composto de câmera fotográfica digital com iluminação por luz branca de diodo. O software VisioFace® Quick permite a avaliação de parâmetros de interesse como poros e desnivelamento da superfície pele. Foram obtidas três imagens para cada voluntária, em diferentes ângulos, de acordo com a região analisada (COURAGE KHAZAKA, 2004).

5.2.7 Avaliação da espessura da epiderme, e caracterização do tamanho e das características celulares de poros e comedões

A avaliação da espessura da epiderme e das características celulares e teciduais de poros e comedões foi realizada utilizando o microscópio de reflectância a laser Vivascope ®1500 (Lucid, Estados Unidos), que permite realizar de forma não invasiva avaliação da pele *in vivo* com resolução similar à histologia convencional, sem nenhum risco para o paciente e de forma totalmente indolor (Figura 3).

Foram obtidas imagens macroscópicas por meio da câmera macroscópica digital com qualidade dermatoscópica (VivaCam®) para a contagem de comedões. A contagem foi realizada utilizando o software Image J®. As imagens microscópicas foram realizadas utilizando dois sistemas de obtenção de imagem, o Vivablock, imagem de 5 mm² que representa secções de tecido dispostas para mapear uma região de tecido em uma única profundidade , e o Vivastack , que são múltiplas imagens confocais em profundidade sucessivas em um certo local do tecido, foram obtidas imagens de 3 em 3 µm até a profundidade de 150µm (LONGO, 2011; BIELFELDTE et al, 2011).

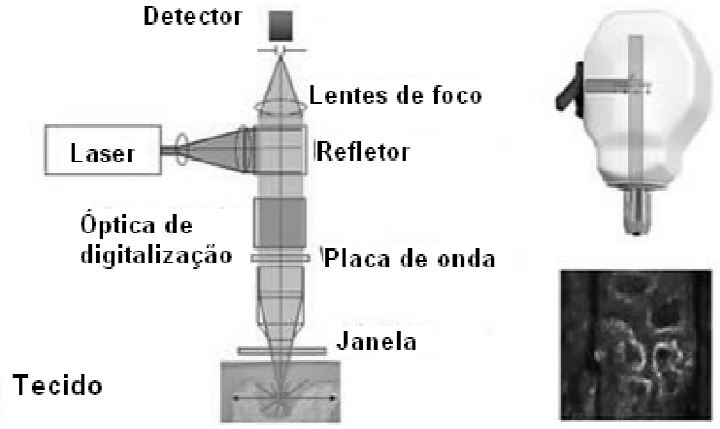


Figura 3 – Funcionamento do microscópio de reflectância a laser Vivascope ®1500.

5.3 Estudos clínicos realizados

5.3.1 Classificação e caracterização dos tipos de pele

5.3.1.1 Triagem das voluntárias

Para a participação do estudo clínico de avaliação das características do tipo de pele, foram selecionadas 25 voluntárias com idades entre 25 e 55 anos de fototipo cutâneo tipo II, III e IV com diferentes tipos de pele.

5.3.1.2 Classificação do tipo de pele

A classificação do tipo de pele foi realizada por o Dr. João Carlos Simões, dermatologista da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, que classificou, por *score* dermatológico, a pele das voluntárias como normal e/ou seca (grupo 1) ou pele mista ou oleosa (grupo 2), conforme descrito na Tabela 6:

Tabela 6- Parâmetros utilizados na classificação do tipo de pele por *Score* dermatológico

Características avaliadas	***Score* dermatológico**		
Hidratação:	**normal (1)**	**normal a seca (2)**	seca (3)
Brilho:	**alto (1)**	**moderado (2)**	baixo (3)
Oleosidade:	**normal (1)**	**mista (2)**	oleosa (3)
Classificação da pele	( ) Seca ( ) Normal a seca ( ) Normal ( ) Normal e mista **( ) Oleosa**		

5.3.1.3 Medidas instrumentais

A avaliação das características da pele de voluntárias foi realizada utilizando técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele. Foram realizadas medidas do conteúdo aquoso do estrato córneo (*Corneometer® CM 825)*, perda transepidérmica de água (*Tewameter® TM 210)*, microrrelevo cutâneo (*Visioscan®* VC 98), pH (pHmeter® 900 PC) e quantidade de sebo (*Sebufix®* F16) na face das voluntárias participantes do estudo, permitindo comparar os resultados nos diferentes grupos (MAIA CAMPOS et al., 2008).

5.3.2 Padronização de técnicas de análise de imagem e para caracterização e contagem de poros e comedões

5.3.2.1 Triagem das voluntárias

Foram selecionadas 19 voluntárias com idades entre 18 e 35 anos de fototipo cutâneo tipo II, III e IV de diferentes tipos de pele e com diferentes quantidades de poros e comedões na pele.

5.3.2.2 Avaliação por técnicas de imagem da pele

Foram avaliadas três regiões da face das voluntárias, para tal, foi demarcada a região de 0,8cm² no nariz, queixo e bochecha (região malar) das voluntárias, conforme demonstrado na Figura 4.

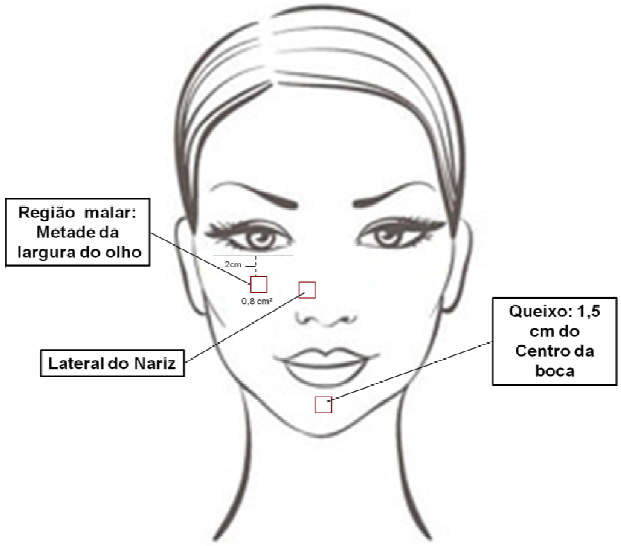


Figura 4 – Regiões avaliadas utilizando as técnicas de análise de imagem.

Foi realizada a Contagem de número de poros pelo sistema Visioface®, avaliação do microrrelevo cutâneo e contagem de comedões pelo Visioscan® VC 98 e software SELS, além da caracterização do tamanho e das características celulares de poros e comedões e determinação da espessura da epiderme utilizando o equipamento Vivascope® e determinação de glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo utilizando fitas Sebufix® F16.

5.3.3 Avaliação de Eficácia Clínica

5.3.3.1 Avaliação Sensorial

A avaliação Sensorial foi realizada com a aplicação das 300 µL formulações F15 e F15C em uma região circular de 5cm de diâmetro no antebraço das voluntárias. Anteriormente ao estudo, as voluntárias foram orientadas quanto aos parâmetros utilizando padõres de referência. As voluntárias foram orientadas a fazer dez movimentos circulares, em movimentos ordenados. As formulações foram avaliadas quanto aos parâmetros: resíduo branco, brilho, absorção, pegajosidade, consistência, oleosidade, pegajosidade, espalhabilidade, toque aveludado, hidratação, sensação de esfarelamento, sensação de suavidade, sensação ao toque e intenção de compra durante a aplicação. Após 5 minutos de aplicação, as formulações foram avaliadas quanto: ao brilho, ao resíduo de oleosidade, toque aveludado, hidratação, sensação de esfarelamento, sensação de suavidade e sensação na pele após 5 minutos (WORTEL, WIECHERS, 2000).

5.3.4 Avaliação de Eficácia Clínica

5.3.4.1 Triagem das voluntárias

Para a participação do estudo clínico de eficácia, foram selecionadas 23 voluntárias de fototipos II, II e IV que declararam possuir pele mista ou oleosa, e apresentaram incomodadas com sinais clínicos decorrentes da pele oleosa como oleosidade excessiva, poros aumentados e comedões. Doze voluntárias participaram da avaliação dos efeitos imediatos e onze voluntárias participaram do estudo de avaliação dos efeitos a longo prazo, sendo que 3 fizeram análises no microscópio confocal de reflectância a laser.

Para a participação do estudo clínico de eficácia, as voluntárias foram orientadas a lavar o rosto de duas a três horas antes da medida, e não aplicarem formulações cosméticas na região de estudo 24h antes das medidas basais. Os testes foram realizados após 15 minutos de aclimatação em temperatura e umidade do ar controlados (20-22ºC e 45-55%, respectivamente).

5.3.4.2 Avaliação dos Efeitos imediatos

5.3.4.2.1 Avaliação utilizando técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele

Para a avaliação dos efeitos imediatos, foram realizadas medidas do conteúdo aquoso do estrato córneo (*Corneometer® CM 825)*, perda transepidérmica de água (*Tewameter*® TM 210*)*, microrrelevo cutâneo (*Visioscan®* VC 98), conteúdo lipídico (*Sebumeter*® SM 815) e quantidade de sebo no infundinbulo (*Sebufix®* F16) na face das voluntárias participantes do estudo para a obtenção das medidas basais, a seguir, foram aplicadas 12 e 50 µl de formulação na fronte e na região malar, respectivamente, conforme descrito na Figura 5 e foram realizadas medidas instrumentais após duas e quatro horas de aplicação da formulação (MAIA CAMPOS et al., 2008).

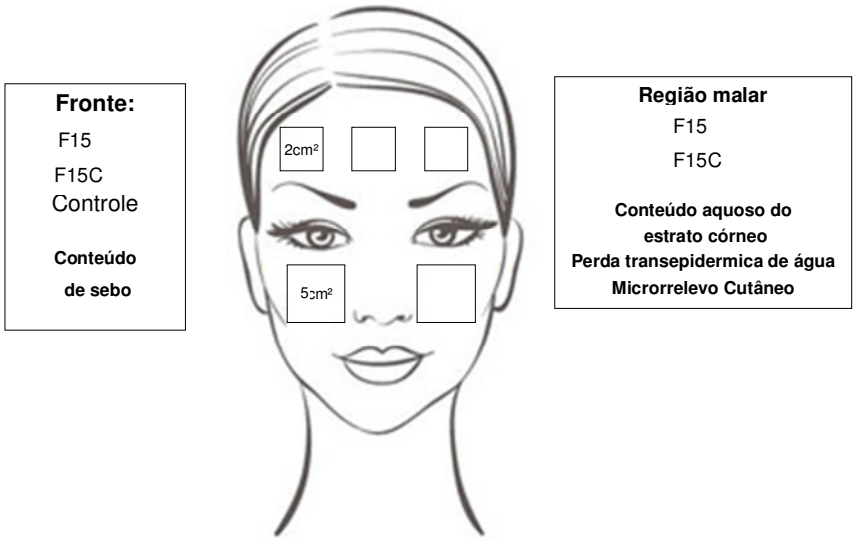


Figura 5 – Regiões avaliadas no estudo de eficácia para a avaliação dos efeitos imediatos.

5.3.4.3 Avaliação dos Efeitos a longo prazo:

5.3.4.3.1 Avaliação utilizando técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele

Para a avaliação dos efeitos a longo prazo, foram realizadas medidas do conteúdo aquoso do estrato córneo (*Corneometer® CM 825)*, perda transepidérmica de água (*Tewameter*® TM 210*)*, microrrelevo cutâneo (*Visioscan®* VC 98), conteúdo lipídico (*Sebumeter*® SM 815) e quantidade de sebo no infundinbulo (*Sebufix®* F16), na face das voluntárias participantes do estudo para a obtenção das medidas basais.

Utilizando técnicas de imagem foi realizada a contagem de comedões (Visioscan® VC 98), contagem de número de poros (Visioface®) e caracterização do tamanho e das características celulares de poros e comedões (Vivascope® 1500), as voluntárias receberam as formulações e foram orientadas a aplicar duas vezes (manhã e tarde) a formulação na face. Novas medidas foram realizadas após 28 dias de aplicação.

5.4 Delineamento estatístico

5.4.1 Correlação

Para avaliar a correlação entre todos os parâmetros de estudo em cada uma das regiões da face foi utilizada correlação de Pearson com auxílio do programa computacional GraphPad Prism 5.

5.4.2 Efeitos imediatos

Os dados experimentais da avaliação dos efeitos imediatos das formulações após uma única aplicação na face das voluntárias consistiram de 3 tratamentos (formulação veículo, formulação com extrato de caju e controle) x 3 tempos de estudo (tempo basal, 2 e 4h) x 12 voluntárias num total de 108 dados numéricos para parâmetros medidos pelos seguintes equipamentos: Sebumeter®, Sebufix®, Corneometer® e Tewameter®.

Para os parâmetros que foram medidos com o equipamento Visioscan (Ser, Sesm, Sew, Sesc e Rt) os dados experimentais da avaliação dos efeitos imediatos das formulações após uma única aplicação na face das voluntárias consistiram de 2 tratamentos (formulação veículo e formulação com extrato de caju) x 3 tempos de estudo (tempo basal, 2 e 4h) x 12 voluntárias num total de 12 dados numéricos.

Primeiramente foi verificada a distribuição normal dos dados utilizando teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov pelo programa computacional Origin 8.0. Em caso positivo como para os parâmetros: conteúdo de sebo, glândulas sebáceas ativas, perda transepidérmica de água e conteúdo aquoso do estrato córneo, foi realizada Análise de Variância com Delineamento Inteiramente Casualizado e teste de Tukey para comparação de médias ($p<0,05$).

Para os parâmetros Ser, Sesc, Sesm e Rt também verificou-se a normalidade da distribuição dos dados, entretanto, utilizou-se teste t de Student para comparação do efeito da

formulação no mesmo tempo e ANAVA com teste de Tukey para comparação do efeito do tempo nas formulações.

Quando verificou-se que o conjunto de dados não seguia uma distribuição normal como para os parâmetros: conteúdo de sebo no infundíbulo (% Emm2) foi utilizado teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação do efeito da formulação no mesmo tempo e teste de Friedman para comparação do efeito do tempo nas formulações.

5.4.3 Longo prazo

Os dados experimentais da avaliação dos efeitos após 28 dias de aplicação 2 vezes ao dia na face das voluntárias consistiu de 1 tratamento (formulação de estudo com extrato de caju) x 2 tempos de estudo (tempo basal e 28 dias) x 11 voluntárias num total de 22 dados numéricos.

Primeiramente foi verificada a distribuição normal dos dados utilizando teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov pelo programa computacional Origin 8.0. Em caso positivo como para os parâmetros: conteúdo de sebo, conteúdo de sebo no infundíbulo (%),conteúdo de sebo no infundíbulo (mm2), contagem de glândulas sebáceas ativas, conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidérmica de água, ser, sesc, sew, sesm e Rt, foi realizado teste t de Student ($p<0,05$) para avaliar o efeito do tempo na formulação de estudo.

Para os parâmetros contagem de poros na região malar, poros no queixo, poros totais, comedões região malar, queixo e nariz pelo Vivascope®, e comedões na região malar, queixo e nariz pelo Visioscan®, os quais também seguiram distribuição normal, foi utilizado teste t de Student ($p<0,05$) quando foi avaliado o efeito no tempo na formulação de estudo.

Para o parâmetro poros no nariz, que não seguiu distribuição normal, foi utilizado teste de Mann Whitney.

6. RESULTADOS

6.1 Caracterização das substâncias em estudo

6.1.1 Determinação do espectro de absorção

Para a determinação do espectro de absorção do extrato na região do ultravioleta. Os extratos foram diluídos em água, e assim, não foi necessário o uso de solventes orgânicos. Na diluição de 1:10, o extrato de caju absorveu na faixa de comprimento de onda ultravioleta, sendo que a maior absortividade foi encontrada na faixa de comprimento de onda UVC (200-290) (Figura 6).

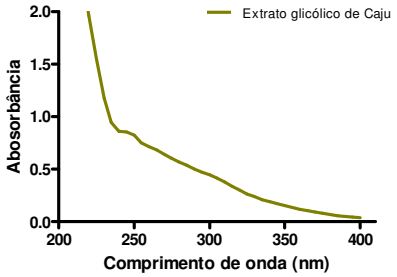


Figura 6- Varredura do extrato de caju na região do ultravioleta (200-400 nm)

6.1.2 Avaliação do potencial antioxidante *in vitro*

O extrato de caju inibiu a quimioluminescência catalisada pela HRP de forma dose dependente, apresentando atividade seqüestradora de radicais livres (Figura 7), com um valor de concentração de inibição de 50% dos radicais livres (IC_{50}) de 8,63 mg/mL.

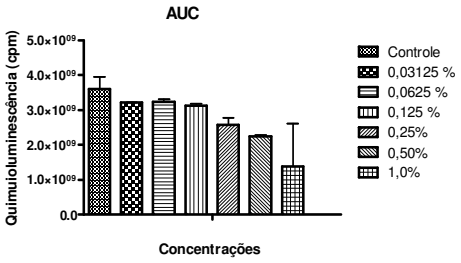


Figura 7- Medida da quimioluminescência gerada no sistema luminol-H_2O-HRP pelo extrato de caju.

6.1.3 Determinação de compostos fenólicos totais

A quantidade de fenóis totais foi determinada por interpolação da absorbância das amostras contra a curva de calibração construída com as soluções-padrão de ácido gálico

(Figura 8) e foi expressa como micromol de equivalentes de acido gálico por litro de extrato (µmol(EAG)/L)

A média de absorvância a 725 nm para o extrato de de Caju e foi de 0,101567. Assim, de acordo com a equação da reta obtida pela curva padrão, temos que o conteúdo de fenóis das amostras estudadas é de 174,73 µmol(EAG)/L, respectivamente.

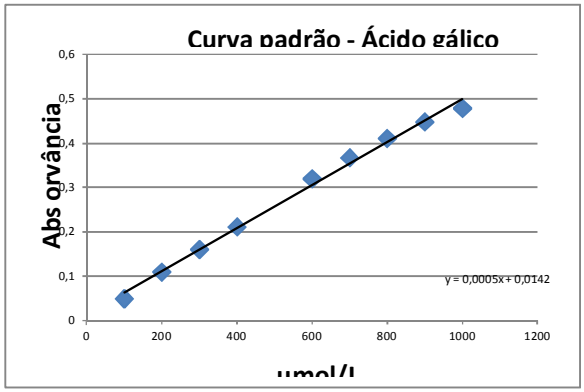


Figura 8 - Curva de calibração das soluções de ácido gálico em diferentes concentrações.

6.2 Desenvolvimento das formulações

As formulações foram desenvolvidas considerando a utilização de matérias-primas estáveis com a finalidade de obtenção de um produto com alta fotoproteção, sensorial agradável para ser aplicado na pele oleosa e que permita a melhoria das condições deste tipo de pele. Nesta etapa, foram considerados diversos fatores como o pH de estabilidade dos princípios ativos, além das características sensoriais, interações e adequação das matéria-primas biocompatíveis de acordo com o tipo de pele, avaliando os benefícios que cada matéria prima pode acrescentar ao produto final.

Após a escolha dos filtros para a obtenção de um FPS estimado de 30, o protocolo de estudo foi delineado em 3 etapas, referentes a escolha do sistema emulsificante seguida do processo de incorporação do filtro físico e incorporação de pós modificadores de sensorial.

Na escolha do sistema emulsificante foi levada em consideração a obtenção de uma emulsão estável, com características sensoriais agradáveis e com baixo conteúdo oleoso. Para tal, dentre os sistemas avaliados selecionou-se a mistura de "Poliacrilato de sódio, Dimeticone, Ciclopentasiloxano, Tridecete-6, PEG/PPG 18/18 Dimeticone" e "Crosspolimero de Acrilatos de Alquila", a qual foi efetiva, uma vez que a emulsão obtida foi estável no teste de centrifugação, ou seja, não apresentou separação de fases.

A formulação F4, portanto, foi a escolhida para a próxima etapa, que consiste na incorporação do filtro físico. O dióxido de titânio TT rutilo, utilizado nas formulações, apresenta revestimento hidrodispersível e, de acordo com literatura do fornecedor deve ser utilizado glicerina, propilenoglicol ou butilenoglicol para dispersar e incorporar o pó. A utilização destes e outros componentes (como tensoativos) para a incorporação do dióxido de titânio, bem como a tentativa de colocar o dióxido de titânio na fase aquosa e a substituição do dióxido de titânio por um de revestimento de silicone foram inviáveis para a obtenção de formulações estáveis.

Além disso, a utilização do Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylpheno (MBBT), um filtro insolúvel, que possui dupla função, ou seja, como filtro químico, absorve a energia solar e a transforma em calor, sem interferir na epiderme, e como filtro físico, reflete as radiações, foi uma alternativa para reduzir a quantidade de TiO_2 utilizado (HERZOG et al, 2002). No entanto, a formulação obtida não apresentou separação de fases no teste de centrifugação. A incorporação do filtro físico foi realizada com o estearato de octila, emoliente não comedogênico para dispersar e auxiliar na incorporação do pó. Seqüencialmente, adicionou-se lanolina etoxilada para auxiliar na estabilidade e sensorial da formulação (F13).

Para proporcionar melhor parâmetro sensorial a formulação F13 foi adicionada de diferentes concentrações de Silica e Polimethyl Methacrylate, dando origem às formulações F14, F15 e F16 que foram adicionadas de extrato de caju (F14C, F15C e F16C)

6.3 Testes preliminares de estabilidade das formulações

6.3.1 Centrifugação

As formulações que não apresentaram separação de fases no teste de centrifugação foram: F2, F4, F11, F12 e F13, F14 e F15 ou seja, apresentaram estabilidade.

6.3.2 Determinação do pH

Os valores de pH obtidos para as formulações submetidas ao teste de avaliação visual (F13, F13C, F14, F14C, F15 e F15C) encontram-se na Tabela 7, Tabela 8 e Tabela 9 e estão dentro da faixa de estabilidade das formulações

Tabela 7 - Valores de pH das formulações desenvolvidas, após 24 horas de preparo das formulações

F13	F13C	F14	F14C	F15	F15C
6,38	6,44	6,41	6,55	6,6	6,29

Tabela 8 - Valores de pH das formulações desenvolvidas após 7 dias em temperatura controlada

T	F13	F13C	F14	F14C	F15	F15C
25°C	7,3	6,6	6,9	7,1	6,7	6,9
37°C	7,0	7,0	7,0	6,9	6,9	7,1
45°C	7,0	7,0	6,7	7,2	6,9	7,2

Tabela 9 - Valores de pH das formulações desenvolvidas após 28 dias em temperatura controlada

T	F13	F13C	F14	F14C	F15	F15C
25°C	7,5	6,6	6,8	6,9	7,1	6,8
37°C	7,3	6,9	7,0	7,3	7,1	6,9
45°C	6,9	6,8	6,8	7,2	7,2	7,3

6.3.3 Avaliação visual

Não houve alteração das características organolépticas das formulações estudadas no período de 28 dias. As formulações F13, F13C, F14, F14C, F15 e F15C foram, portanto, consideradas estáveis frente a estes testes preliminares de estabilidade.

6.4 Determinação da atividade fotoprotetora *in vitro*

Os valores de Razão UVA/UVB, Classificação Boots Star, Absorção na região do UVA, λc(nm), FPS in vitro, FPS in vivo estão demonstrados na Tabela 10. O espectro de absorção da formulação na faixa de 290 a 400 nm está demonstrado na Figura 9.

O fotoprotetor desenvolvido possui alta proteção UVB (FPS 50) e UVA, apresentando fotoproteção de amplo espectro.

Tabela 10 – Resultados obtidos pela determinação da atividade fotoprotetora *in vitro*

Amostra	Razão UVA/UVB	Classificação Boots Star	Absorção na região do UVA	λc(nm)	FPS *in vitro*	FPS *in vivo*
Form. 6	0,68	*** (Good)	89,48	374	73,06 ± 7,39	50 ± 7

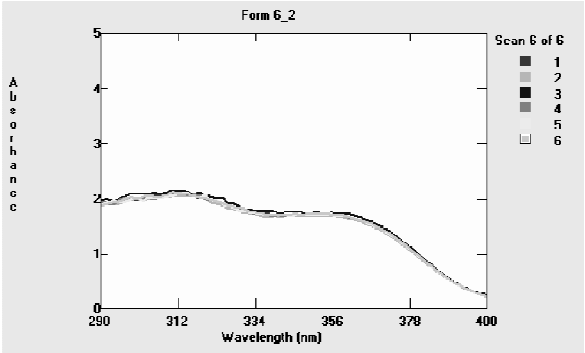


Figura 9 – Espectro obtido pela formulação F15C.

6.5 Classificação e caracterização dos tipos de pele

6.5.1 Classificação do tipo de pele

Dentre as 25 voluntárias selecionadas, 8 foram classificadas como pele normal e/ou seca (Grupo 1) e 17 foram classificadas como pele mista e oleosa (Grupo 2).

6.5.2 Medidas instrumentais

Pela avaliação do conteúdo aquoso do estrato córneo, o grupo 2 apresentou valores menores de hidratação, mas estes ainda se encontram nos níveis normais de hidratação. O grupo 2 apresentou ainda maiores valores de perda transepidermica de água, quando comparado ao grupo 1 e maiores valores para o parâmetro Ser, relacionado à aspereza da pele como pode ser observado na Figura **10**. Os resultados para cada voluntária se encontram no Apêndice A.

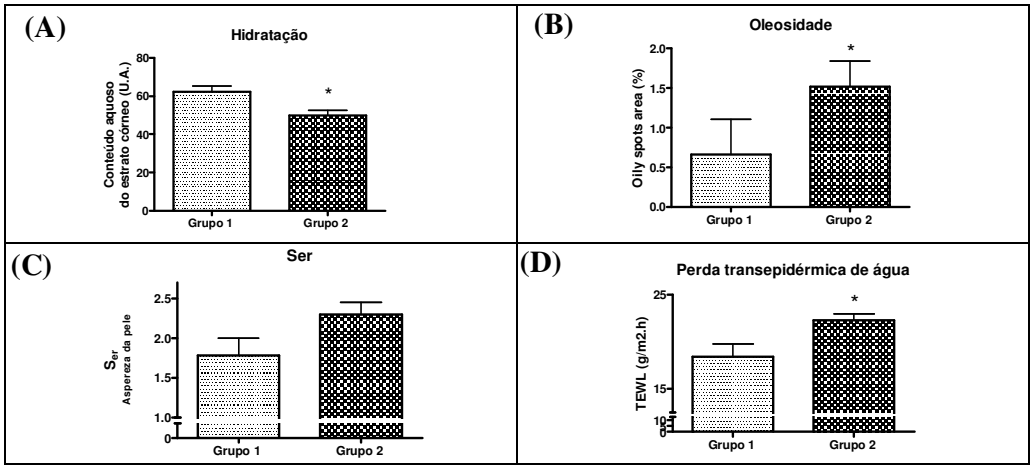


Figura 10 - Conteúdo aquoso do estrato córneo (A), perda transepidérmica de água (B), oleosidade (%) (C) e aspereza da pele (Ser) (D) dos grupos 1 e 2. * Média significativamente diferente em relação ao grupo 1.

6.5.2.1 Correlação entre perda transepidermica de água e conteúdo de sebo no infundíbulo

No grupo 2 foi realizado um teste de correlação de Pearson, e observou-se correlação posistiva entre os valores de perda transepidermica de água obtidos e a % de sebo no infundíbulo (Coeficiente de Pearson = 0,6, $p<0,02$) (Figura 11).

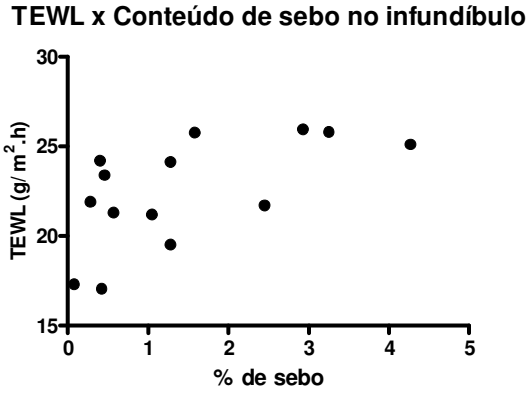


Figura 11 –Correlação entre a perda transepidermica de água e porcentagem de sebo (conteúdo de sebo no infundíbulo).

6.5.3 Avaliação por *Score* dermatológico

A avaliação por *score* dermatológico demonstrou que o grupo com pele oleosa apresentou menor hidratação, maior oleosidade e brilho em relação ao grupo 1(Figura 12).

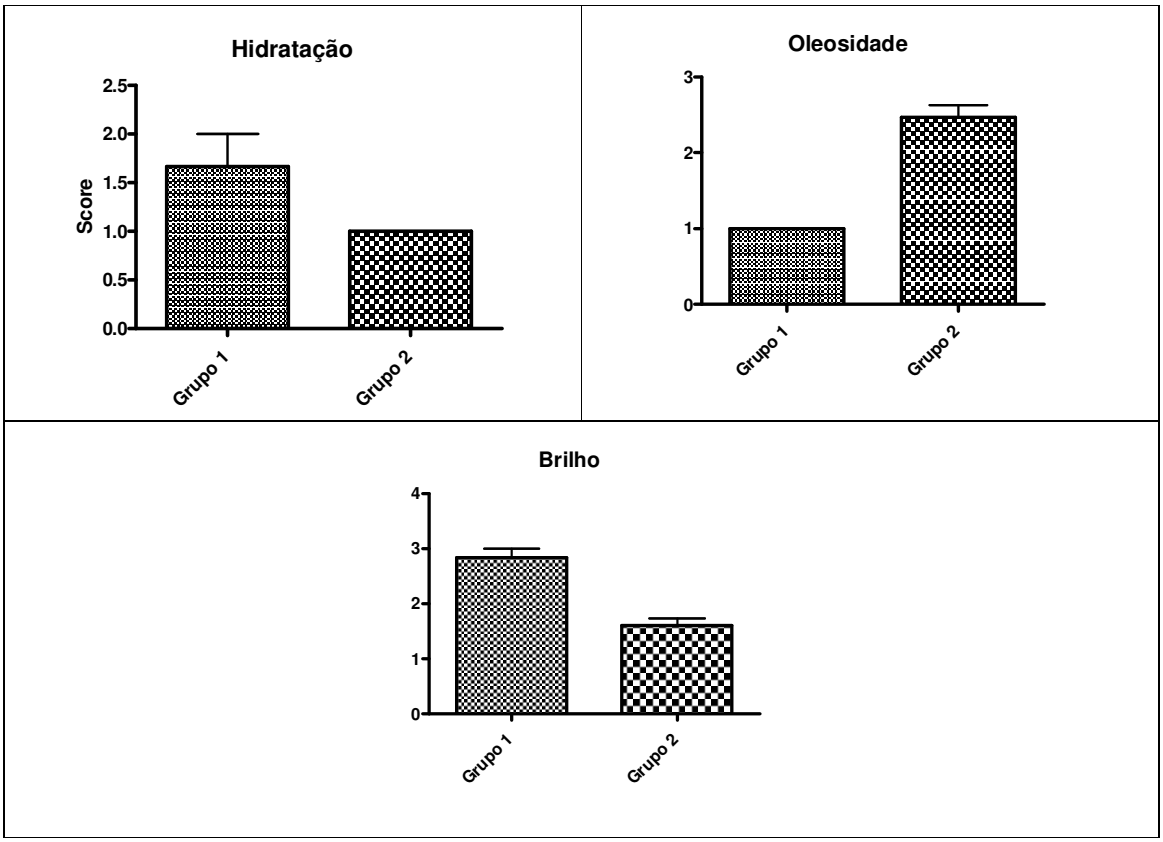


Figura 12 - Resultados de hidratação, oleosidade e brilho avaliados por *Score* dermatológico

6.6 Padronização de técnicas de análise de imagem e para caracterização e contagem de poros e comedões

6.6.1 Avaliação da aspereza e rugosidade e contagem de comedões

O Visioscan® VC 98 apresentou-se adequado para a contagem de comedões, os quais se apresentaram como pontos pretos bem definidos sob a luz UVA emitida pelo equipamento (Figura 13).

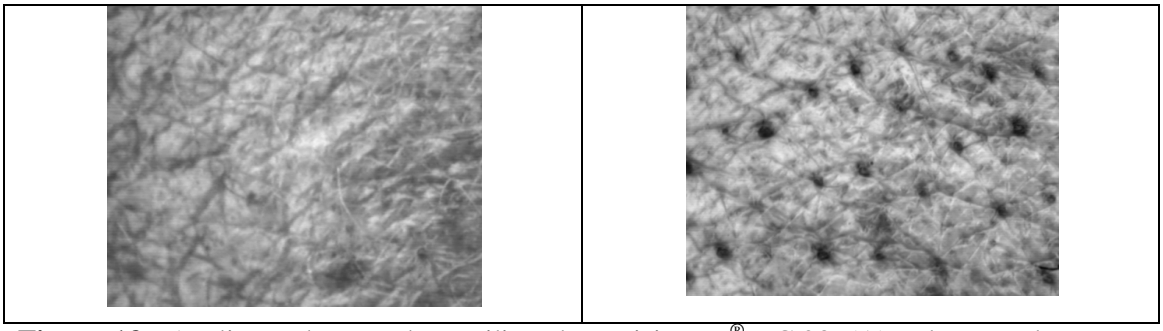


Figura 13 - Avaliação de comedões utilizando o Visioscan® VC 98. (A) Pele normal, sem comedões , (B) Pele com comedões.

Na contagem de comedões avaliada pelo Visioscan® VC 98, a região do nariz apresentou maior quantidade comparado às outras regiões (Figura 14). Além disso, essa região apresentou maior aspereza (Ser)(Figura 15) , mas no mesmo não observado para a rugosidada (Rt) (Figura 16). Os resultados para cada voluntária encontram-se no ApêndiceB, C e D.

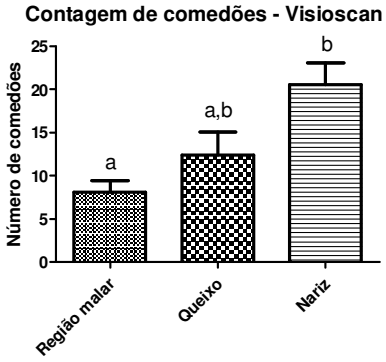


Figura 14-Resultado do número de comedões avaliado pelo euipamento Visioscan ® VC 98 no estudo de caracterização. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes.

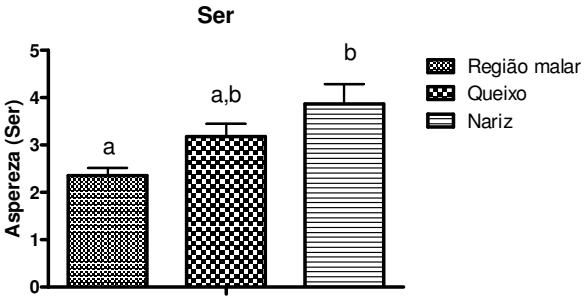


Figura 15-Resultado do parâmetro aspereza (Ser) no estudo de caracterização. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes.

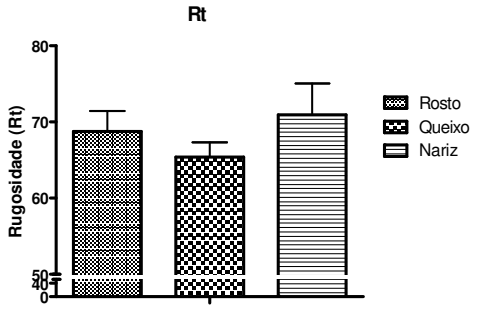


Figura 16- Resultado do parâmetro rugosidade (Rt) no estudo de caracterização.

6.6.2 Glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo

Na quantidade de sebo do infundíbulo e glândulas sebáceas ativas obtidas pela fita Sebufix® F16 (Figura 17), a região do nariz apresentou menor quantidade de glândulas sebáceas ativas e maior quantidade de sebo no infundíbulo comparada às demais regiões (Figura 18 e Figura 19). Os resultados para cada voluntária encontram-se nos Apêndices E, F e G.

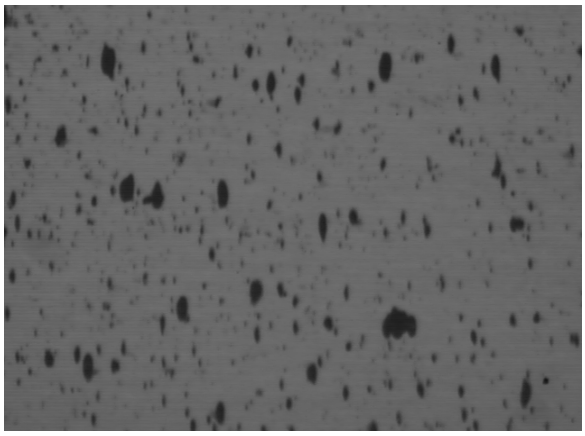


Figura 17 - Avaliação de glândulas sebáceas ativas utilizando o Sebufix F16.

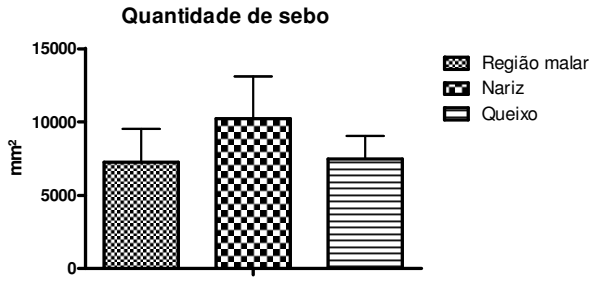


Figura 18-Conteúdo de sebo no infundíbulo (mm²) no estudo de caracterização.

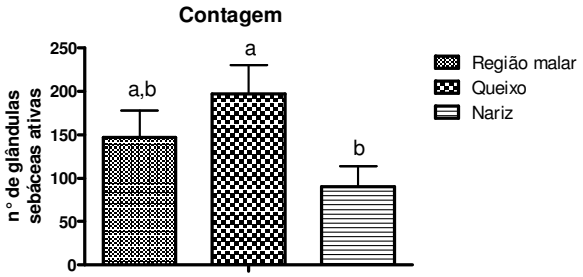


Figura 19-Número de glândulas sebáceas ativas no estudo de caracterização. Letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes.

6.6.3 Contagem de número de poros

Os resultados de contagem de poros grandes e poros pequenos pelo *software* Visioface Quick® (Figura 20) demonstraram que a região malar apresenta maior número de poros grandes, e a região do nariz, menor número de poros totais (Figura 21). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice H.

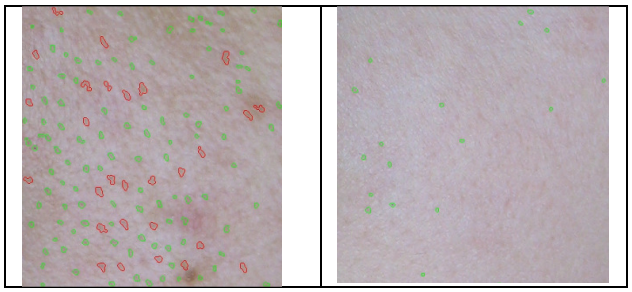


Figura 20- Contagem de poros grandes (círculos vermelhos) e poros pequenos (círculos verdes) pelo software Visioface Quick®.

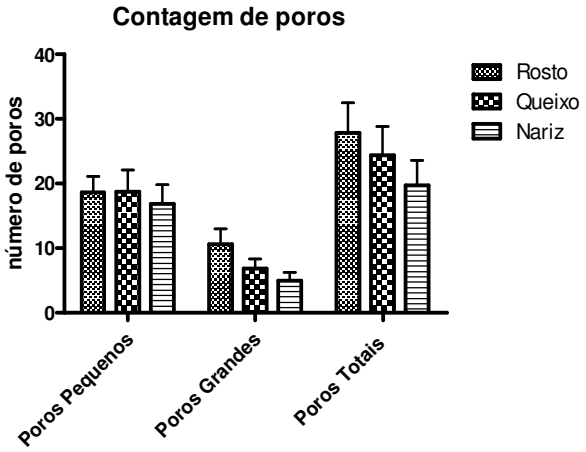


Figura 21- Resultados dos parâmetros quantidade de poros pequenos, poros grandes e poros totais obtidos no estudo de caracterização.

6.6.4 Avaliação da espessura da epiderme, contagem de comedões e caracterização celulares de poros e comedões.

Na avaliação da espessura da epiderme, a região do queixo apresentou menor espessura comparado à região malar do rosto (Figura 22). A região do nariz apresentou maior número de comedões (Figura 23).Os resultados para cada voluntária encontram-se nos Apêndices I e J.

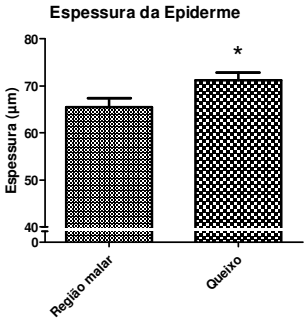


Figura 22- Espessura da epiderme no estudo de caracterização. * Média significativamente diferente em relação à região malar.

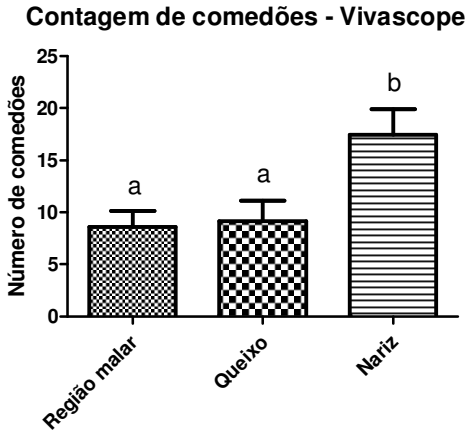


Figura 23- Número de comedões avaliado pela imagem macroscópica do equipamento Vivascope 1500 ® no estudo de caracterização.

Por meio da obtenção de imagens em profundidade (Vivastack) avaliou-se as características teciduais de poros e comedões. O poro apresentou-se como uma depressão no estrato córneo, apresentando um revestimento queratinizado, representado pela coloração branca, característica da queratina, sendo que o lúmen do folículo apresenta um diâmetro maior que um folículo normal (Figura 24). Na avaliação dos comedões, por sua vez, foi possível observar a massa branca que corresponde a uma mistura de lipídeos e queratina, apresentando também um padrão de hiperqueratinização, na camada de células do infundíbulo (Figura 25).

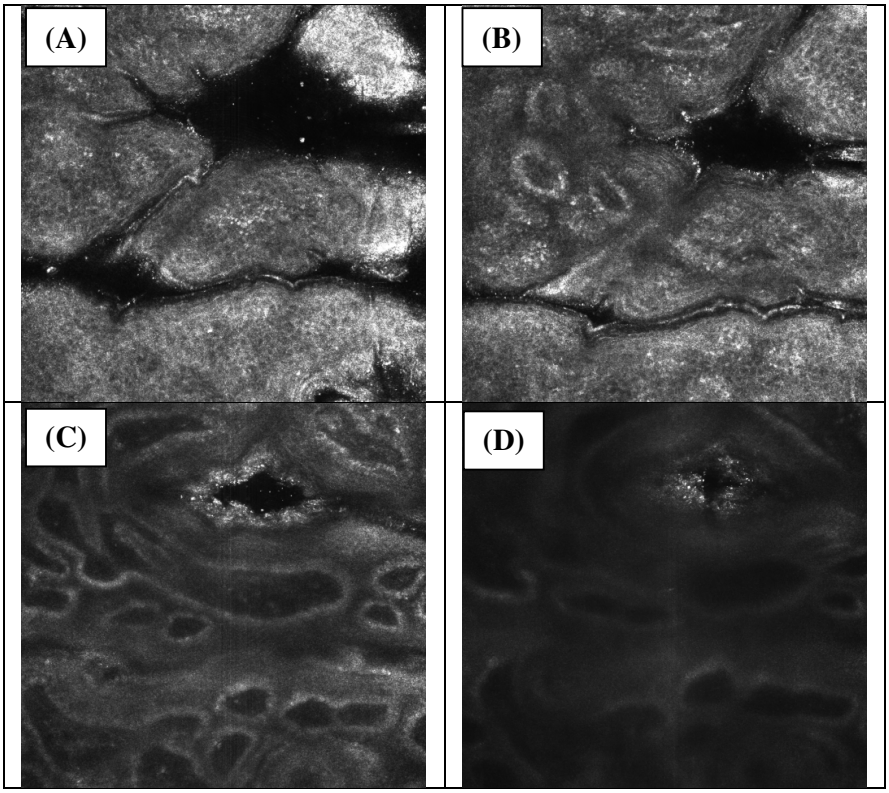


Figura 24- Aspecto visual de poros em diferentes profundidades da pele - 18µm (A), 36 µm (B) , 81 µm (C)e 126 µm (D) .

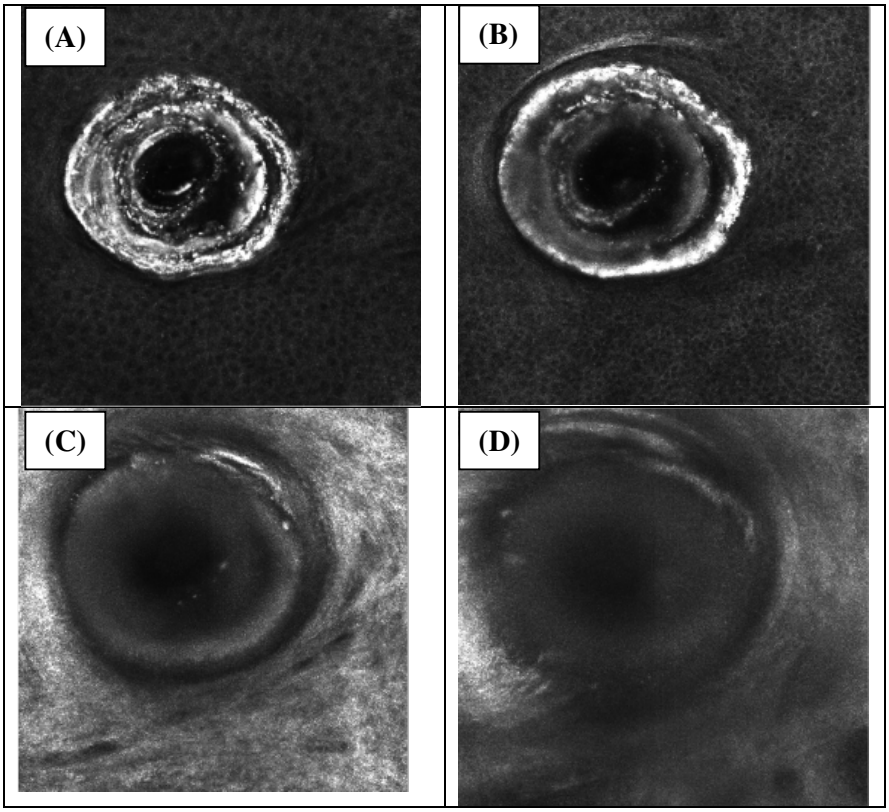


Figura 25- Aspecto visual de um comedão em diferentes profundidades da pele - 18µm (A), 36 µm (B) , 81 µm (C)e 126 µm (D) .

6.6.5 Estudo de Correlação entre os parâmetros avaliados

Os resultados de correlação dos parâmetros nas diferentes regiões estão descritos na Tabela 11, Tabela 12 e Tabela 13, sendo que o sinal "+" indica correlação positiva de Pearson ($p<0,05$). Os valores do coeficiente de correlação de Pearson encontram-se nos Apêndices K e L.

De acordo com os resultados de correlação entre os parâmetros avaliados na região malar, pôde-se observar que o conteúdo de sebo no infundíbulo está positivamente correlacionado com a contagem de número de poros, não apresentando correlação com a contagem de comedões. Além disso, foi possível observar que os parâmetros do microrrelevo aspereza (Ser) e rugosidade (Rt) apresentou correlação positiva com o número de poros (Tabela 11).

Na região do queixo, observou-se correlação positiva entre o conteúdo de sebo e o parâmetro rugosidade (Rt), número de poros e comedões.

A região do nariz não apresentou correlação positiva entre os parâmetros quantidade de sebo, e contagem de glândulas sebáceas ativas e número de poros e comedões.

Tabela 11 – Correlação entre os parâmetros avaliados na região malar.

	Ser	Rt	Seb %	Cont. glan.	Comed. Vivascope	Comed. visioscan	Cont. poros
Ser	+		+	+			+
Rt		+		+	+	+	+
Seb %	+		+	+			+
Cont. glan.	+	+	+	+			+
Comed. Vivascope		+			+	+	+
Comed. visioscan					+	+	+
Cont. poros	+	+	+	+	+	+	

Tabela 12 - Correlação entre os parâmetros avaliados na região do queixo.

	Ser	Rt	Seb %	Cont. glan.	Comed. Vivascope	Comed. visioscan	Cont. poros
Ser							
Rt			+	+	+	+	+
Seb %		+	+	+	+	+	+
Cont. glan.		+	+				
Comed. Vivascope		+	+				+
Comed. visioscan		+	+				+
Cont. poros		+	+		+	+	

Tabela 13 - Correlação entre os parâmetros avaliados na região do nariz.

	Ser	Rt	Seb %	Cont. glan.	Comed. Vivascope	Comed. visioscan	Cont. poros
Ser		+	+			+	
Rt	+		+	+		+	
Seb %	+	+		+			
Cont. glan.		+	+				
Comed. Vivascope							+
Comed. visioscan					+	+	+
Cont. poros					+	+	

6.7 Avaliação de Eficácia Clínica

6.7.1.1 Avaliação Sensorial

A formulação contendo extrato de caju foi a melhor avaliada do estudo sensorial devido as melhores notas obtidas nos parâmetros sensação ao toque e sensação ao Toque após 5 minutos, além de apresentar 100% de intenção de compra contra apenas 50% da formulação sem extrato (Figura 26 e Figura 27). Além disso, a adição do extrato de caju na formulação proporcionou a mesma melhor avaliação sensorial relacionada aos parâmetros oleosidade, resíduo de oleosidade, resíduo de brilho, suavidade e suavidade após cinco minutos quando comparada a formulação veículo (Figura 28). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice M.

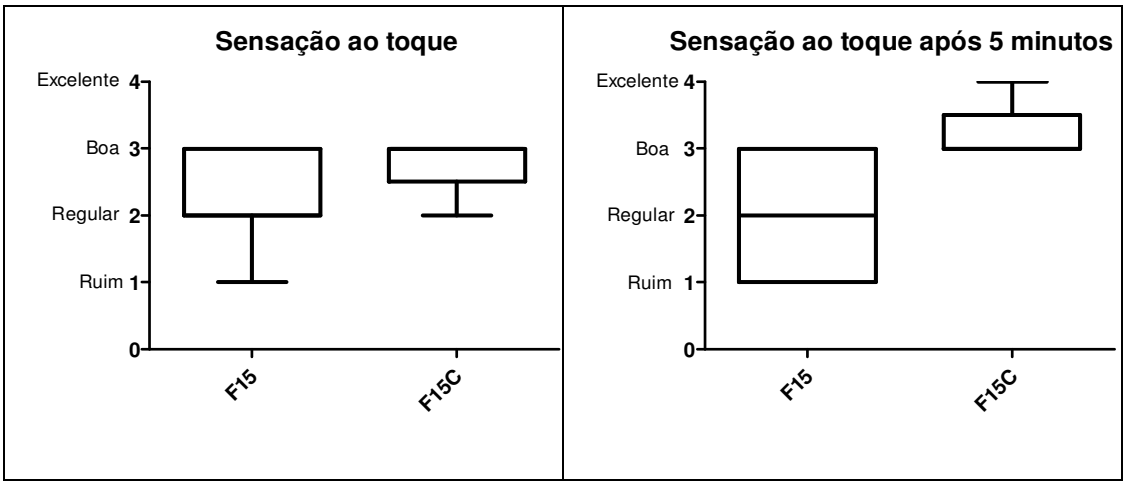


Figura 26 – Distribuição de notas do parâmetro "Sensação ao Toque" (A) e "Sensação ao Toque após 5 minutos" (B).

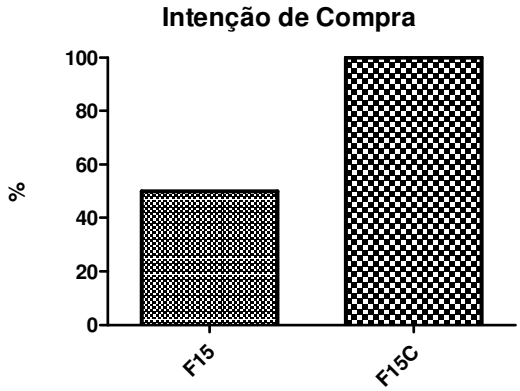


Figura 27 – Porcentagem de Intenção de compra das formulações F15 e F15C.

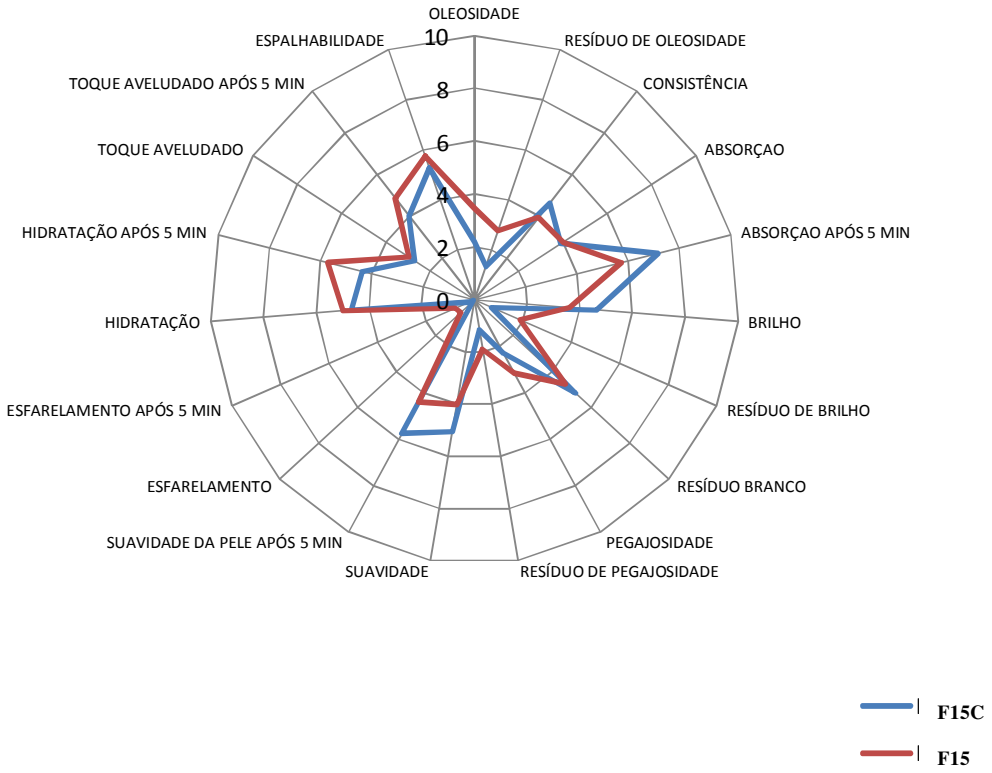


Figura 28 – Média das notas dos parâmetros avaliados no estudo de avaliação sensorial.

6.7.2 Avaliação de Eficácia Clínica por técnicas de biofísica e análise de imagem

6.7.2.1 Avaliação dos Efeitos imediatos

6.7.2.1.1 Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas no conteúdo aquoso do estrato córneo após duas e quatro horas de uma única aplicação das formulações F15 e F15C (

Figura 29). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice N.

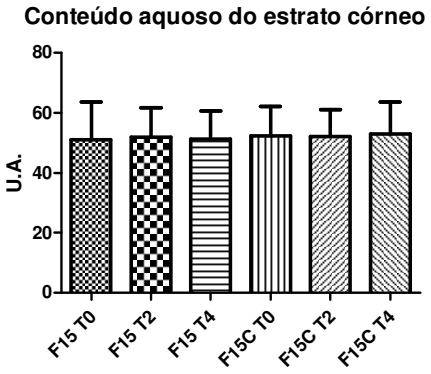


Figura 29 – Conteúdo aquoso do estrato córneo, antes (T0) e após duas (T2) e quatro horas (T4) de aplicação da formulação. F15 – Formulação fotoprotetora e F15C - Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju.

6.7.2.1.2 Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL)

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas perda transepidérmica de água após duas e quatro horas de uma única aplicação das formulações F15 e F15C (Figura 30). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice O.

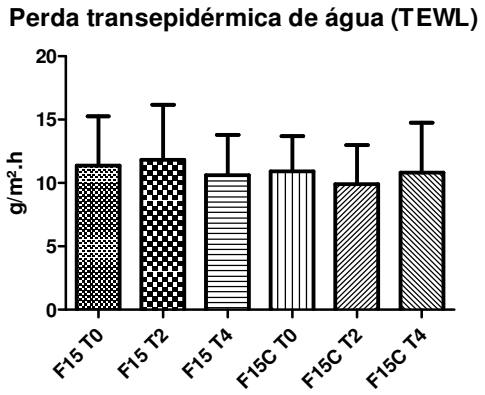


Figura 30 – Perda transepidérmica de água, antes (T0) e após duas (T2) e quatro horas (T4) de aplicação das formulações F15 – Formulação fotoprotetora e F15C - Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju.

6.7.2.1.3 Determinação do microrelevo cutâneo

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas nos parâmetros do microrrelevo aspereza (Ser), Maciez (Sesm), e rugosidade (Rt) após duas e quatro horas de uma única aplicação das formulações F15 e F15C (Figura 31, Figura 32 e Figura 33). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice P.

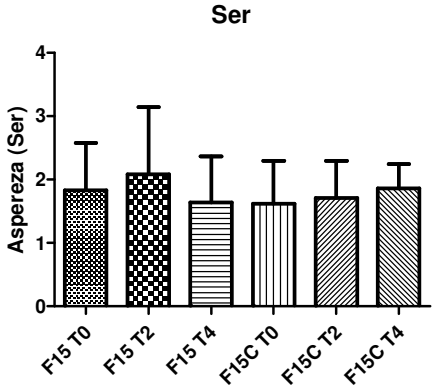


Figura 31- Aspereza da pele (Ser), antes (T0) e após duas (T2) e quatro horas (T4) de aplicação das formulações F15 – Formulação fotoprotetora e F15C - Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju.

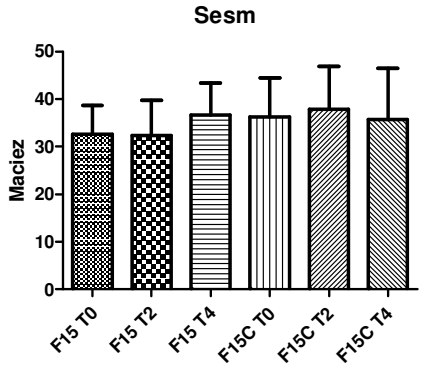


Figura 32- Maciez da pele (Sesm), antes (T0) e após duas (T2) e quatro horas (T4) de aplicação das formulações F15 – Formulação fotoprotetora e F15C - Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju.

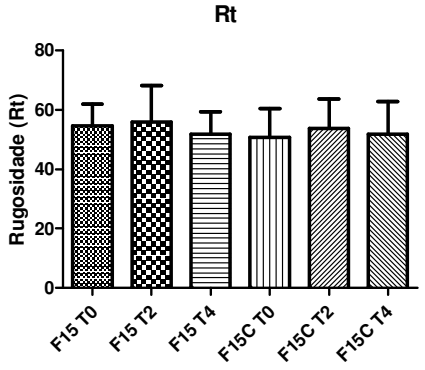


Figura 33- Rugosidade da pele (Rt), antes (T0) e após duas (T2) e quatro horas (T4) de aplicação das formulações F15 – Formulação fotoprotetora e F15C - Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju.

6.7.2.1.4 Determinação do conteúdo lipídico.

Apenas na região onde foi aplicada a formulação F15 houve um aumento significativo do conteúdo de sebo após duas e quatro horas de aplicação da formulação. A formulação F15C não apresentou tal efeito, mostrando que o extrato de caju impediu o aumento do conteúdo de sebo nessas condições de estudo (Figura 34). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice Q.

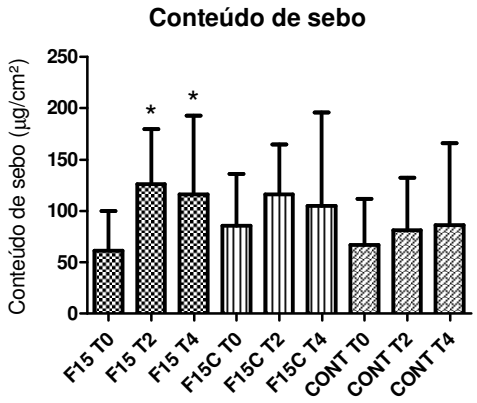


Figura 34- Conteúdo de sebo, antes (T0), e após duas (T2)e quatro horas (T4)de aplicação das formulações F15 – Formulação fotoprotetora e F15C - Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju. * Médias significativamente diferentes em relação aos valores basais.

6.7.2.1.5 Glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas nos parâmetros Glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo após duas e quatro horas de uma única aplicação das formulações F15 e F15C (Figura 35, Figura 36 e Figura 37). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice R.

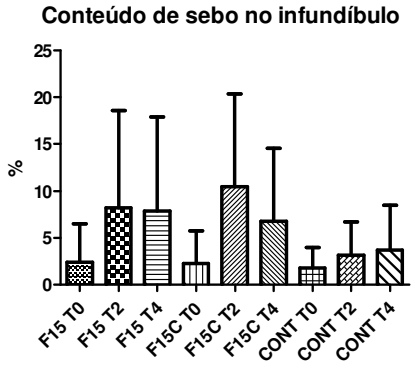


Figura 35- Conteúdo de sebo no infundíbulo (%), antes (T0) e após duas (T2)e quatro horas (T4) de aplicação das formulações F15 – Formulação fotoprotetora e F15C - Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju.

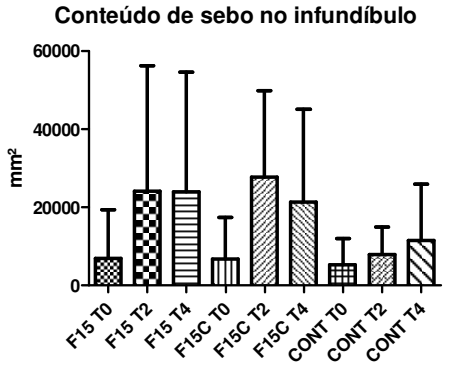


Figura 36- Conteúdo de sebo no infundíbulo (mm²), antes (T0) e após duas (T2)e quatro horas (T4) de aplicação das formulações F15 – Formulação fotoprotetora e F15C - Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju.

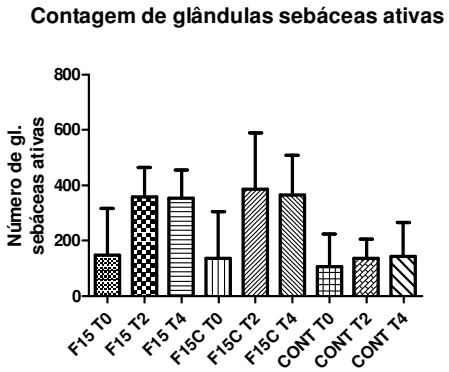


Figura 37- Glândulas sebáceas ativas, antes (T0) e após duas (T2)e quatro horas (T4) de aplicação das formulações F15 – Formulação fotoprotetora e F15C - Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju.

6.7.3 Avaliação dos efeitos a longo prazo

6.7.3.1 Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas no conteúdo aquoso do estrato córneo após 28 dias de aplicação da formulação F15C (Figura 38). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice S.

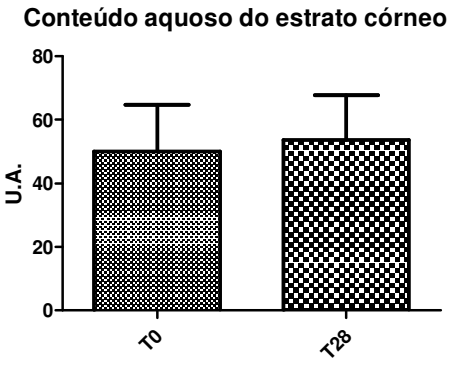


Figura 38- Conteúdo aquoso do estrato córneo, antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

6.7.3.2 Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL)

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas da perda transepidérmica de água após 28 dias de aplicação da formulação F15C (Figura 39). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice T.

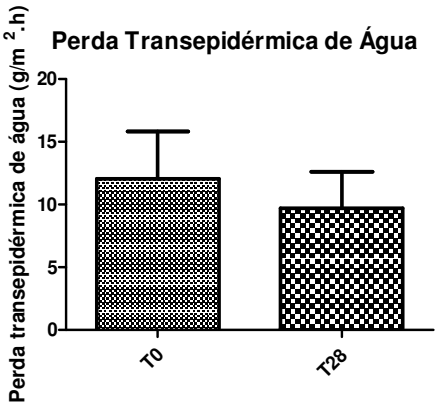


Figura 39- Perda transepidermica de água, antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

6.7.3.3 Determinação do microrrelevo cutâneo e contagem de comedões

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas nos parâmetros do microrrelevo aspereza (Ser), descamação (Sesc), maciez (Sesm), número e largura de rugas (Sew) e rugosidade (Rt) após 28 dias de aplicação da formulação F15C (Figura 40, Figura 41,

Figura 42,Figura 43 e Figura 44). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice U.

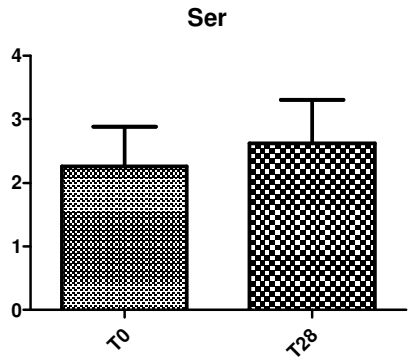


Figura 40- Aspereza da pele (Ser), antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

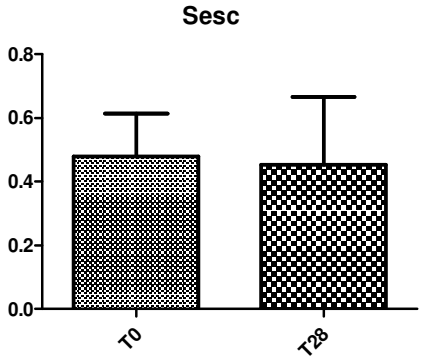


Figura 41- Descamação da pele (Ser), antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

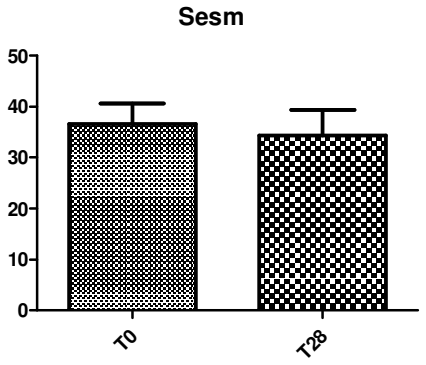


Figura 42 - Maciez da pele (Sesm), antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

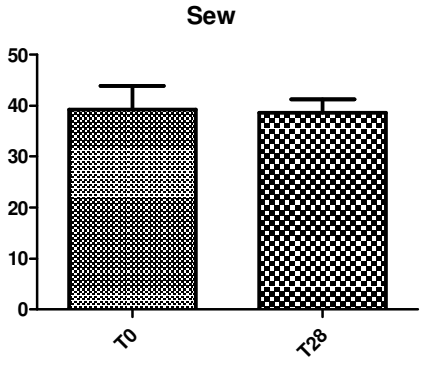


Figura 43- Número e largura das rugas (Sew), antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

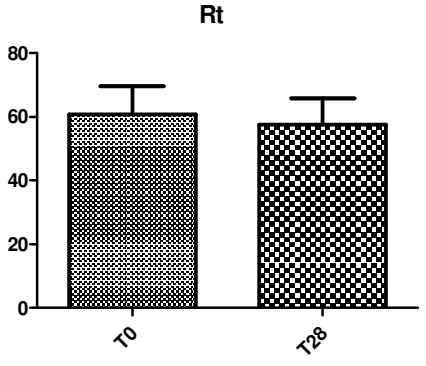


Figura 44- Rugosidade (Rt), antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

6.7.3.4 Determinação do conteúdo lipídico.

Nas medidas após 28 dias de aplicação da formulação houve um aumento significativo do conteúdo de sebo em relação aos valores basais (Figura 45). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice V.

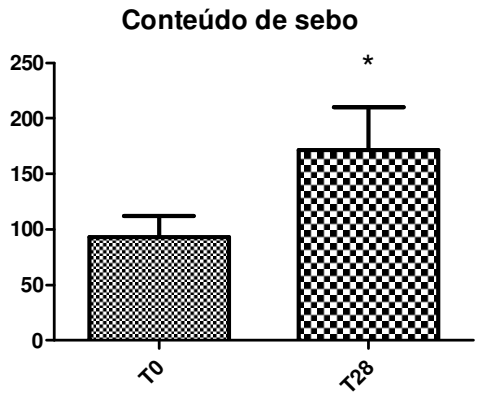


Figura 45 – Conteúdo de sebo, antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação diária da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju). * Médias significativamente diferentes em relação aos valores basais.

6.7.3.5 Glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas na quantidade de glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo após 28 dias de aplicação da formulação F15C. (Figura 46, Figura 47e Figura 48). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice V.

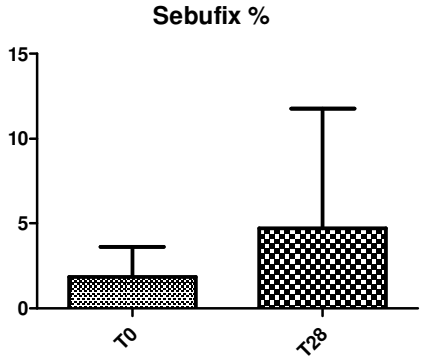


Figura 46 Quantidade de sebo no infundíbulo (%), antes (T0), e após 28 dias (T28) de aplicação diária da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

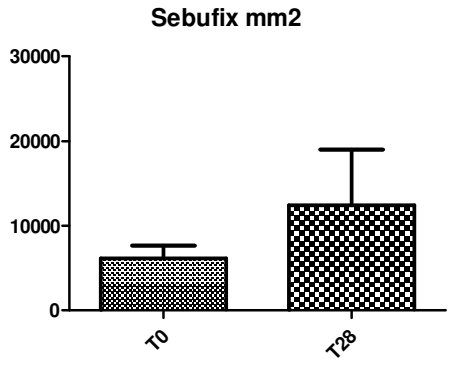


Figura 47- Quantidade de sebo no infundíbulo (mm2), antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação diária da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

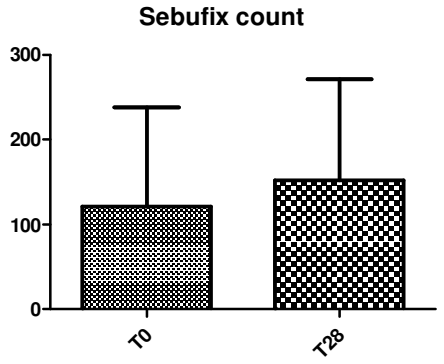


Figura 48 – Quantidade de Glândulas sebáceas ativas antes (T0), e após 28 dias (T28) de aplicação diária da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

6.7.3.6 Contagem de número de poros

Após 28 dias de aplicação da formulação foi observada uma redução significativa do número total de poros no queixo (Figura 50). Não foram observadas alterações estatisticamente significativas no número de poros da região malar e nariz após 28 dias de aplicação da formulação F15C (Figura 49 e Figura 51). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice X.

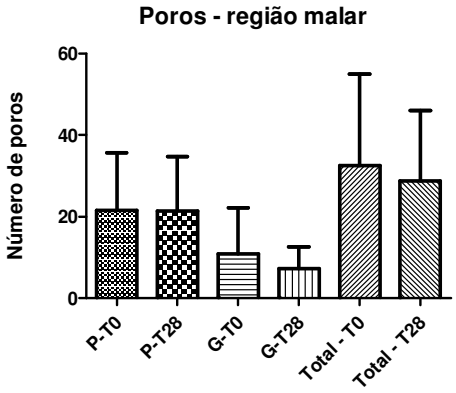


Figura 49 – Número de poros na região malar, antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação diária da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

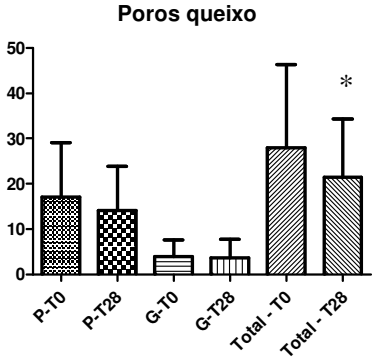


Figura 50 - Número de poros na região do queixo, antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação diária da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju). * Média estatisticamente diferente dos valores basais.

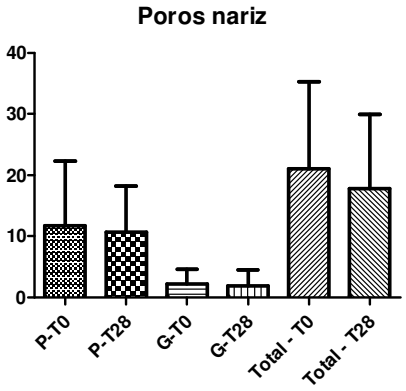


Figura 51- Número de poros na região do nariz, antes (T0) e após 28 dias (T28) de aplicação diária da formulação F15C (Formulação fotoprotetora + 3,5% de extrato de caju).

6.7.3.7 Avaliação e caracterização do tamanho e das características celulares de poros e comedões.

Não foram observadas alterações estatisticamente significativas no número de comedões por avaliação pelo Visioscan® VC98 e pelo Vivascope ® 1500 na região malar queixo e nariz após 28 dias de aplicação da formulação F15C (Figura 52 e Figura 53). Os resultados para cada voluntária encontram-se no Apêndice Z.

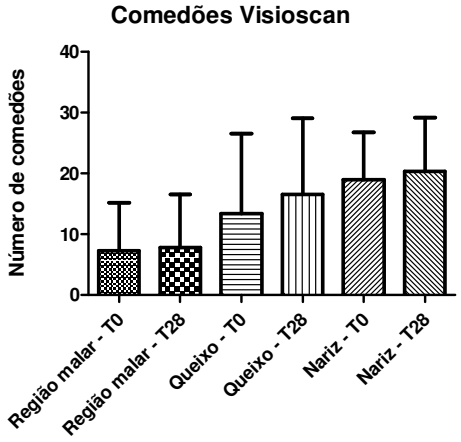


Figura 52- Contagem de comedões do Visioscan® VC98 antes, e após 28 dias de aplicação diária da formulação F15C.

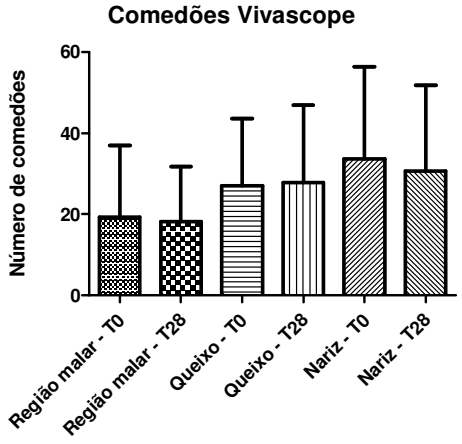


Figura 53- Contagem de comedões do Vivascope® 1500 antes, e após 28 dias de aplicação diária da formulação F15C.

6.7.3.8 Avaliação e caracterização do tamanho e das características celulares de poros e comedões.

Após 28 dias de aplicação da formulação F15C não foi observada alterações significativas no número de comedões (Figura 49).

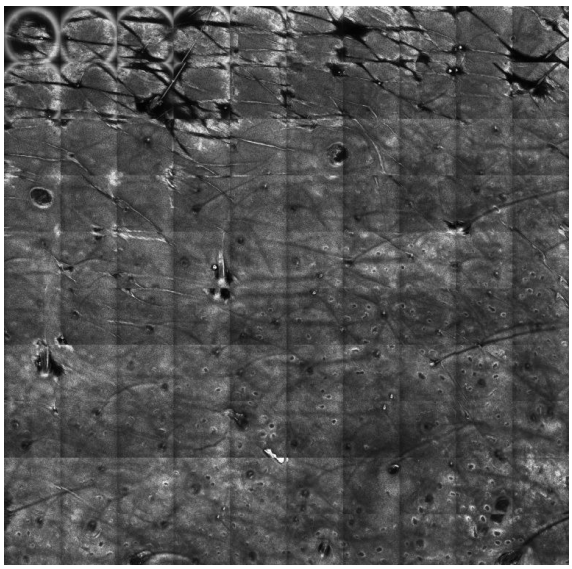


Figura 54- Imagem da camada granulosa obtida por escaneamento de superfície (Vivablock) utilizando o microscópio confocal Vivascope® 1500 antes da aplicação da formulação.

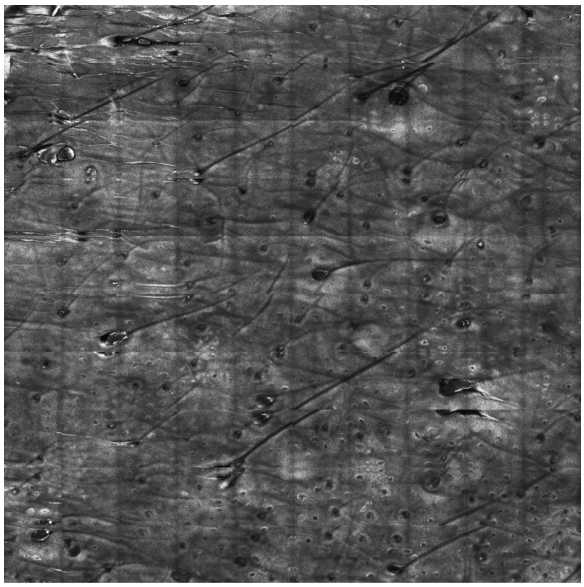


Figura 55- Imagem da camada granulosa obtida por escaneamento de superfície (Vivablock) utilizando o microscópio confocal Vivascope® 1500 após 28 dias de aplicação da formulação.

7. DISCUSSÃO

A Cosmetologia é uma ciência interdisciplinar, uma vez que consiste no estudo, interação e aplicação de varias áreas para o desenvolvimento tecnológico de produtos cosméticos, tais como química, física, bioquímica e biologia da pele. O conhecimento da fisiologia da pele e a interação entre o produto cosmético e os sistemas biológicos estão diretamente relacionados à segurança e eficácia do produto.

Na área de Pesquisa & Desenvolvimento de cosméticos, é de extrema importância correlacionar as diferentes características da pele para delinear o protocolo de pesquisa e desenvolvimento de produtos cosméticos inovadores e efetivos, que atendam às reais necessidades da pele.

O desenvolvimento de formulações para os cuidados da pele é um processo que envolve a pesquisa detalhada e a escolha criteriosa de matérias-primas. Nesta etapa, deve-se levar em consideração diversos fatores como o pH de estabilidade dos princípios ativos, além das características sensoriais, interações entre os ingredientes da formulação e a seleção de matérias-primas biocompatíveis de acordo com o tipo de pele, avaliando os benefícios que tais matérias-primas podem acrescentar ao produto final tanto em termos tecnológicos quanto para aumentar a eficácia do produto na pele.

Assim, considerando a importância da pesquisa e do conhecimento das propriedades das matérias-primas em relação aos benefícios que estas podem proporcionar à formulação cosmética, no presente estudo, o extrato de caju foi analisado quanto à sua capacidade de absorver luz na região do UV, quanto à atividade antioxidante *in vitro* e, ainda, quanto ao seu conteúdo de compostos polifenólicos, para aplicação em formulações fotoprotetoras para os cuidados da pele oleosa/ acneica.

O extrato de caju analisado nesse estudo apresentou potencial antioxidante o que, de acordo com os resultados obtidos na determinação do conteúdo de compostos polifenólicos, está relacionado à presença desses. De acordo com estudos anteriores, onde o efeito antioxidante do caju foi avaliado por diferentes métodos de avaliação, e o extrato de caju apresentou atividade antioxidante pronunciada, relacionada à presença de compostos polifenólicos, ácido tânico e vitamina C (CAVALCANTE et al, 2003).

Assim, de acordo com os resultados obtidos, podemos relacionar a atividade antioxidante do extrato de caju a compostos fenólicos como proantocianidinas: epicatequina e epicatequina 3-O-galato, bem como a compostos não fenólicos presentes no caju como a vitamina C, ácido anacárdico e carotenóides (QUEIROZ et al, 2011).

Os resultados obtidos mostraram que a rica composição do extrato glicólico de caju foi responsável pela atividade antioxidante observada neste estudo, demonstrando seu potencial de uso em formulações cosméticas com finalidades anti radicais livres e protetoras.

O desenvolvimento das formulações objeto de estudo, contendo extrato de caju, exigiu uma extensa busca de matérias-primas com a finalidade de atender aos benefícios propostos para a formulação a ser estudada. A proposta de desenvolver uma formulação fotoprotetora para a pele oleosa utilizando matérias-primas compatíveis com esse tipo de pele, que proporcionassem um toque agradável, não oleoso e apresentem estabilidade exigiu também a criteriosa escolha de filtros solares considerados seguros, fotoestáveis e que fornecessem ampla proteção UVA/UVB.

Um dos parâmetros mais importantes para que as matérias-primas utilizadas em uma formulação cosmética sejam não somente compatíveis entre si, mas também compatíveis com o manto ácido da pele é o pH (RODRIGUES, 1997). As formulações estudadas apresentaram valores de pH em torno de 6,5, pois, essa faixa de pH é considerada ideal para a finalidade proposta e ao pH de estabilidade dos filtros orgânicos selecionados.

Algumas das formulações propostas, F13, F13C, F14, F14C e F15 e F15C, a base de "Poliacrilato de sódio, Dimeticone, Ciclopentasiloxano, Tridecete-6, PEG/PPG 18/18 Dimeticone" e "Crosspolimero de Acrilatos de Alquila" como agentes emulsificantes e espessantes e "estearato de octila" como emoliente e agente dispersante do filtro físico e "Sílica" ' Polimetil Methacrylate" como pós modificadores de sensorial mostraram-se estáveis frente aos testes preliminares de estabilidade, durante o período de 28 dias. Além disso, não houve alteração pronunciada de pH no referido período, o que pode ser um indicativo de que estas formulações provavelmente não apresentarão problemas futuros de estabilidade (KLEIN, 1999). As formulações F16 e F16C, por apresentarem maior conteúdo de pós modificadores de sensorial apresentaram sinais de instabilidade.

As formulações F15 e F15C, por se apresentarem estáveis e conterem uma maior concentração de pós modificadores de sensorial foram selecionadas para os estudos clínicos de eficácia.

Além disso, a formulação F15C foi avaliada quanto a sua eficácia fotoprotetora pelo método de espectrofotometria de refletância difusa com esfera integrada, método que vem sendo empregado com sucesso para a determinação do FPS *in vitro,* apresentando FPS 50. A formulação F15C também apresentou alta proteção UVA, com comprimento de onda crítico acima de 370 nm e Classificação Boot's Star considerada como Boa. Assim, o fotoprotetor desenvolvido está de acordo com as novas diretrizes das agências regulamentadoras

internacionais que consideram a importância do balanço entre a proteção UVA e UVB (MATTE, 2010).

Uma vez que os filtros orgânicos utilizado, que garantem alta proteção possuem caráter lipofílico, o desenvolvimento de uma formulação fotoprotetora com ampla proteção e que ainda seja compatível com a biologia da pele oleosa, ou seja, apresente sensorial agradável e não proporcione o desenvolvimento da acne cosmética, é considerado um desafio para os formuladores.

Assim, para o desenvolvimento de um cosmético, com efetiva aplicação, uso direcionado e adequado para determinado tipo de pele, é de extrema importância o estudo das características cutâneas. O conhecimento das características clínicas da pele oleosa com o auxílio de um dermatologista, o uso de técnicas avançadas para a avaliação dos sinais clínicos dessa pele e a avaliação de suas características de acordo com a região da face foram essenciais como etapas preliminares para a realização de um estudo clínico de eficácia detalhado.

No estudo de classificação e caracterização dos tipos de pele, foi possível, por meio de *score* Dermatológico, separar o grupo de voluntárias em dois grupos: grupo 1 – pele normal e seca e grupo 2 – pele oleosa, e então, por meio da avaliação dermatológica e por técnicas de biofísica podemos comparar as características da pele dos dois diferentes grupos analisados.

Na avaliação por *Score* dermatológico o grupo com pele oleosa apresentou maior brilho (aspecto visual) e oleosidade, esta pele também foi classificada como hidratada. No entanto, nos resultados obtidos por medidas instrumentais, em relação à hidratação, o grupo 2, com pele oleosa apresentou valores menores que o grupo 1, mas ainda nos níveis considerados normais de hidratação.

Tal resultado demonstra que a avaliação visual da hidratação pode ser inespecífica, e que devem ser realizados estudos com medidas objetivas como a avaliação do conteúdo aquoso do estrato córneo para se obter uma informação mais detalhada e precisa da hidratação da pele.

Em relação ao conteúdo de sebo, como esperado, obtivemos valores maiores para o grupo 2, uma vez que, esta parece ser uma característica presente na pele oleosa. Todavia, os valores de pH para os dois tipos de pele não apresentaram diferenças.

Em relação ao microrrelevo cutâneo, os voluntários com pele oleosa apresentaram valores de aspereza maiores que no grupo de voluntários com pele normal ou seca (grupo 1). Essa característica pode ser devido às irregularidades presentes na pele oleosa, como poros

abertos e comedões, que podem influenciar nos resultados do microrrelevo cutâneo (SUGATA, 2008).

Além disso, o grupo 2 apresentou maiores valores TEWL, e quando avaliados os valores de TEWL e quantidade de sebo deste grupo, observamos uma correlação positiva entre esses dois parâmetros. Os valores mais altos de TEWL para as voluntárias de pele oleosa mostram que o excesso de sebo pode prejudicar a função barreira da pele. Tais resultados estão de acordo com estudos da literatura que citam que o excesso de secreção sebácea pode estar relacionado com desequilíbrio do manto hidrolipídico, sendo que a proporção de lipídios na pele pode interferir na função barreira da pele e então, influenciar nos valores de TEWL. Outros estudos exploram a correlação deste desequilíbrio com alterações no processo de queratinização, resultando em danos na função barreira da pele. (KATSUTA et al, 2005; KATUSHIRO et al, 2001; YAMAMURA et al, 1997)

O sebo possui uma composição de lipídios que difere da composição equilibrada do manto hidrolipídico, e portanto, a secreção excessiva de sebo pode interferir na proporção balanceada desses. Estudos relatam que o excesso da produção de sebo gera um declínio da proporção de ácido linoleico e sua deficiência está relacionada com a disfunção da função barreira, com o processo da formação de microcomedões e ainda com o aumento da permeabilidade de substâncias inflamatórias na parede do comedão (ELIAS et al.1980; LETAWE; PIÉRARD, 1998; PICARDO et al., 2009; STEWART et al., 1986).

Dessa maneira, aliando a classificação clínica dermatológica e as técnicas de biofísica e análise de imagem foi possível definir características cutâneas específicas da pele oleosa, tais como brilho e oleosidade avaliadas por dermatologista bem como menor proteção da perda de água transepidémica devido ao comprometimento da função barreira da pele e, ainda, maior aspereza e maior oleosidade da pele avaliadas pelas técnicas de biofísica e análise de imagem da pele.

A pele oleosa apresenta sinais clínicos, como poros abertos, comedões e acne inflamatória, que apresentam impacto social e emocional negativo devido ao seu caráter inestético, sendo necessária uma avaliação clínica detalhada dessas características.

Atualmente, as técnicas avançadas de análise de imagem envolvem alta tecnologia e tem sido de grande importância como complemento ou alternativa para a avaliação clinica dermatológica das características da pele oleosa (RAMLI, 2011). No presente estudo foi realizado o estudo clínico de caracterização e contagem de poros e comedões utilizando técnicas de análise de imagem, permitindo correlacionar ainda as diferentes características nas regiões da face. A pele da face apresenta propriedades que são distintas da pele de outras

partes do corpo, sendo que características biofísicas, morfológicas e estruturais muito diferentes podem ser observadas nas suas diferentes regiões (WA; MAIBACH, 2010).

Avaliando-se as características regionais, de acordo com os resultados obtidos no presente estudo pelo equipamento Sebufix® F16, observou-se que há maior produção de sebo na região do nariz comparado às outras regiões. No entanto, em relação à contagem de glândulas sebáceas ativas, essa região apresentou menor quantidade, o que permitiu concluir que apesar do menor número de glândulas, essas apresentam maior atividade de produção sebácea.

Em um estudo realizado por Youn et al, 2004, a região do nariz foi a que apresentou maior conteúdo lipídico avaliado pelo equipamento Sebumeter®. Outros estudos correlacionam o menor conteúdo lipídico da região malar, em comparação à região correspondente à zona T (fronte, nariz e queixo). Além disso, quando avaliada diferentes regiões da bochecha, podemos observar que as regiões mais próximas do nariz apresentam maior conteúdo lipídico (WA, MAIBACH 2010).

Os poros são aberturas visíveis e estão relacionados com a secreção sebácea, com o processo de hiperqueratinização do infundíbulo do folículo piloso e também possuem uma relação com a estrutura de sustentação da epiderme e da derme. Em relação à quantidade de poros, o queixo e a região malar apresentaram maior número de poros em relação ao nariz, sendo que a região malar apresentou maior quantidade de poros grandes, avaliados pelo *software* Visioface Quick®.

As regiões do rosto apresentam diferenças quanto a espessura da derme e epiderme, sendo que, a região do nariz apresenta maior espessura desses tecidos, garantindo maior sustentação e, com isso, não seria uma região com características propícias para a formação de poros aumentados (CONTET-AUDONNEAU , 1999; PELLACANI, G.; SEIDENARI, 1999). A maior quantidade de poros grandes na região malar pode estar relacionada também a fatores estruturais, uma vez que pelos resultados obtidos no presente estudo e dados relatados na literatura, essa região possui menor espessura da epiderme, o que pode favorecer a maior abertura, deixando-o mais visível na superfície (MURAKAMI et al., 2006) .

Kim et al, 2011, avaliaram a correlação de diferentes parâmetros com a presença de poros e observaram a relação entre o maior número de poros e menor elasticidade da pele, mostrando que a pele mais firme e estruturada pode estar relacionada com a menor tendência de formação de poros.

Considerando que, em relação ao número de comedões a região do nariz foi a que apresentou o maior número comparada à região malar e ao queixo e, em relação à avaliação

da correlação entre a produção sebácea e o número de glândulas sebáceas ativas, observou-se apenas uma correlação positiva na região do queixo, pode-se deduzir que na região malar, o excesso da produção de sebo se relaciona com a presença de poros, e não de comedões.

Um aspecto importante a ser considerado é a correlação obtida de parâmetros do microrrelevo com o número de poros da região malar, sendo que a mesma correlação não foi observada para as outras regiões.

A região malar é a região onde os poros são mais visíveis (maior presença de poros grandes), os quais se apresentam como "grandes vales" nas imagens obtidas pela câmera do Visioscan® VC98. Para esse parâmetro, observou-se correlação positiva na face, assim, a análise dos parâmetros rugosidade e aspereza do microrrelevo da pele pode ser considerada um aspecto importante a ser avaliado nos estudos de avaliação de tamanho e quantidade de poros.

As diferentes características discutidas mostram que a pele é uma estrutura complexa e que diversos fatores podem estar envolvidos na conformação de suas características e aspectos clínicos. Sendo assim, é de grande importância obter uma visão ampla e dinâmica de todos os fatores envolvidos, e avaliá-los em conjunto, permitindo a obtenção resultados conclusivos.

O presente estudo também caracterizou estruturas como poros e comedões, por microscopia confocal por reflectância a laser, o qual permite uma análise minuciosa das diferentes camadas da pele, bem como da estrutura do folículo piloso.

Os poros aumentados avaliados podem ou não possuir um comedão no seu interior. O poro é caracterizado por uma depressão no estrato córneo, apresentando um revestimento queratinizado, representado pela coloração branca, característica da queratina, sendo que o lúmen do folículo apresenta um diâmetro maior que um folículo normal. Na avaliação dos comedões, por sua vez, foi possível observar a massa branca que corresponde a uma mistura de lipídeos e queratina, apresentando também um padrão de hiperqueratinização, na camada de células do infundíbulo.

A face, por apresentar características regionais específicas, pode apresentar particularidades, quanto a suas características fisiológicas e estruturais, que originam sinais clínicos diferenciados, mostrando assim a complexidade de fatores que influenciam as características observadas na pele.

As formulações desenvolvidas foram avaliadas quanto às suas características sensoriais as quais são importantes, pois, podem determinar a aceitação do consumidor, sendo que esse fator é mais importante ainda para produtos para a pele oleosa. Por meio do estudo

de avaliação sensorial, foi possível analisar o efeito do extrato de caju na avaliação sensorial das formulações cosméticas, uma vez que, a adição do extrato, ao influenciar nas propriedades físicas da formulação, poderia levar a uma maior ou menor aceitabilidade do produto. As formulações desenvolvidas (F15 e F15C) apresentaram sensorial diferenciado, com ótimas notas relacionadas aos parâmetros oleosidade, brilho, pegajosidade e aceitação das voluntárias. Considerando o caráter lipofílico dos filtros utilizados para a obtenção da ampla fotoproteção, na área de Tecnologia de Cosméticos o desenvolvimento de um fotoprotetor com sensorial diferenciado e alta fotoproteção é um grande desafio. Assim, o fotoprotetor desenvolvido é um produto inovador e representa uma contribuição relevante na área.

A formulação contendo extrato de caju foi a melhor avaliada do estudo sensorial devido as melhores notas obtidas nos parâmetros sensação ao toque e sensação ao Toque após 5 minutos, além de apresentar 100% de intenção de compra contra apenas 50% da formulação sem extrato. Além disso, a adição do extrato de caju na formulação proporcionou a mesma melhor avaliação sensorial relacionada aos parâmetros oleosidade, resíduo de oleosidade, resíduo de brilho, suavidade e suavidade após cinco minutos quando comparada a formulação veículo.

Acredita-se que os taninos presentes no extrato podem ser os responsáveis por essa propriedade, uma vez que, a adstringência proporcionada pelo produto, quando em contato com a pele, pode alterar a percepção tátil do voluntário. Sendo assim, o emprego do extrato de caju em formulações para a pele oleosa pode proporcionar um toque mais seco à formulação e auxiliar assim na preferência do consumidor ao produto, pois se constitui em um fator muito importante para o uso de fotoprotetores na pele oleosa.

Assim, em relação ao desenvolvimento de uma formulação fotoprotetora para a pele oleosa proposto, a formulação desenvolvida, acrescida de extrato de caju, mostrou-se adequada e efetiva para a aplicação nesse tipo de pele. A avaliação dos efeitos imediatos dos produtos cosméticos é de grande importância uma vez que permite avaliar a ação destes produtos logo após a aplicação. Na avaliação dos efeitos imediatos da formulação em estudo, nenhuma das formulações apresentou efeitos imediatos no conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidérmica de água e nos parâmetros do microrrelevo.

Em relação ao conteúdo de sebo na pele, a formulação veículo apresentou aumento significativo do conteúdo de sebo após duas e quatro horas de aplicação do produto. Tal efeito não foi observado na formulação contendo extrato de caju e na região controle, as quais não apresentaram um aumento significativo na produção de sebo.

Uma vez que os filtros orgânicos presentes na formulação veículo apresentam caráter graxo, esses podem ter sido responsáveis pelo aumento da oleosidade decorrente da aplicação da formulação. Por outro lado, considerando que a formulação contendo extrato de caju, apesar de apresentar os mesmos filtros, não apresentou aumento significativo da produção de sebo nas mesmas condições, podemos considerar a retenção do sebo no infundíbulo, devido à propriedade adstringente e constritora de poros característica dos taninos, presente no extrato de caju (SMITH, 2006). Esse efeito justifica ainda mais a aplicação do extrato de caju em formulações cosméticas para a pele oleosa.

Na avaliação dos efeitos das formulações a longo prazo, após 28 dias de aplicação, não foram observadas alterações significativas nos parâmetros biofísicos e de análise de imagem: conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidermica de água, parâmetros do microrrelevo, secreção sebácea, contagem de glândulas sebáceas ativas.

No entanto, houve um aumento do conteúdo de sebo na região analisada após a aplicação da formulação. Tal efeito pode ter ocorrido em função de uma mudança nas condições de temperatura na semana das medidas basais e nas medidas finais durante o estudo, visto que, segundo um estudo de Youn et, al,(2005) e Piérard-Franchimont et al., (1990), a maior produção de sebo pode ser devida às variações sazonais de temperatura e, portanto, esse deve ser um interferente significante a ser considerado na conclusão do estudo.

Além da avaliação das características biofísicas, é de extrema importância a avaliação detalhada da influência do uso da formulação nos sinais clínicos comuns na pele oleosa: poros e comedões, pois essa é uma preocupação constante para pacientes com este tipo de pele e grande causa da descontinuação de uso de fotoprotetores. Assim o protocolo experimental desse estudo foi delineado de modo a melhor avaliar essas características utilizando técnicas de análise de imagem.

Nas condições do estudo, não observou-se alterações significativas de comedões nas três regiões avaliadas antes e após 28 dias de aplicação da formulação. Tal resultado é de grande interesse e importância tanto para médicos dermatologistas quanto para o consumidor final, pois o uso de fotoprotetores está relacionado ao desenvolvimento de acne cosmética, principalmente na pele oleosa (GUERRERO, 2010). Assim, a formulação mostrou ser não comedogênica nas condições do estudo, e, portanto apropriada para o uso nesse tipo de pele.

Em relação à avaliação de poros, a aplicação da formulação reduziu o significativamente o número de poros no queixo das voluntárias após 28 dias de uso. Tal resultado pode ser atribuído a propriedade constritora de poros, devido à presença de taninos no extrato de caju. Sendo assim, esse resultado demonstra o beneficio do uso do extrato de

caju em formulações cosméticas para melhorar o aspecto dos poros, característica muito comum na pele oleosa.

Finalizando, o presente trabalho apresenta como contribuição a melhor caracterização clínica da pele oleosa com o auxilio de técnicas de biofísica e imagem da pele e a padronização de técnicas para contagem e avaliação de poros e comedões, bem como a comprovação do potencial do extrato de caju como ativo em formulações para controle da oleosidade e melhoria das condições da pele oleosa. Além disso, apresenta um produto inovador e diferenciado, com eficácia e sensorial agradável e compatível ao uso na pele oleosa.

8. CONCLUSÃO

Nas condições experimentais desse trabalho foi possível concluir que:

O extrato glicólico de caju apresentou atividade antioxidante e conteúdo considerável de compostos polifenólicos, destacando-se como potencial ativo para uso em formulações cosméticas com finalidades anti radicais livres e protetoras.

A formulação fotoprotetora desenvolvida, F15C, contendo "Poliacrilato de sódio, Dimeticone, Ciclopentasiloxano, Tridecete-6, PEG/PPG 18/18 Dimeticone" e "Crosspolimero de Acrilatos de Alquila" como agentes emulsificantes e espessantes e "estearato de octila" como emoliente e agente de dispersão do filtro físico, e "Silica" e "Polymethil Methacrylate" como pós modificador de sensorial apresentou-se estável frente aos testes preliminares de estabilidade.

A formulação F15C, contendo extrato de caju, apresentou alta fotoproteção UVA e UVB e FPS 50, com comprimento de onda crítico acima de 370 nm e Classificação Boost considerada como Boa, atendendo às novas diretrizes internacionais.

A pele oleosa foi caracterizada clinicamente como a que apresenta maior brilho e oleosidade bem como maior perda de água transepidérmica. Quando avaliada pelas técnicas de biofísica e análise de imagem da pele mostrou maior aspereza e maior oleosidade quando comparada aos demais tipos de pele.

As técnicas computacionais de análise de imagem mostraram-se adequadas para avaliação criteriosa das características do tecido cutâneo e, assim, são de grande interesse para estudos clínicos de caracterização da pele e de eficácia de formulações cosméticas para a pele oleosa.

As diferentes regiões da pele, nariz, queixo e região malar apresentaram características diferentes relacionadas à oleosidade e à quantidade de poros e comedões. A região malar apresentou maior quantidade de poros grandes, fator esse relacionado aos parâmetros do microrrelevo, rugosidade e aspereza. Além disso, nessa região, o excesso da produção de sebo se relaciona com a presença de poros, e não de comedões. A região do nariz apresentou maior conteúdo de sebo no infundíbulo e menor quantidade de glândulas sebáceas ativas, mostrando maior atividade de produção sebácea nessa região sendo que, dentre as regiões avaliadas, apresenta maior número de comedões.

O extrato glicólico de caju proporcionou benefícios sensoriais à formulação fotoprotetora uma vez que a formulação acrescida desse extrato obteve melhores notas nos parâmetros Sensação ao toque e Sensação ao Toque após 5 minutos da aplicação, oleosidade,

resíduo de oleosidade, resíduo de brilho, suavidade e suavidade após cinco minutos e, ainda, intenção de compra, quando comparada a formulação veículo.

Na avaliação dos efeitos imediatos das formulações objeto de estudo, não foram obtidos efeitos imediatos significativos no conteúdo aquoso do estrato córneo, perda de água transepidérmica e nos parâmetros do microrrelevo. Porém, a formulação acrescida do extrato de caju proporcionou retenção do conteúdo de sebo.

Na avaliação dos efeitos das formulações a longo prazo, a formulação desenvolvida não apresentou alterações significativas nos parâmetros biofísicos e de análise de imagem: conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidermica de água, parâmetros do microrrelevo, secreção sebácea, contagem de glândulas sebáceas ativas.

A formulação fotoprotetora proposta, contendo o extrato de caju, mostrou-se adequada para o controle da oleosidade na pele oleosa com tendência a acne uma vez que causou retenção do conteúdo de sebo, comparada à formulação veículo após duas e quatro horas de aplicação da formulação, bem como proporcionou redução do número de poros no queixo e não causou aumento de comedões no estudo em longo prazo.

A caracterização da pele e a padronização das técnicas para a avaliação de sinais clínicos da pele oleosa foram fundamentais para fornecer subsídios para a obtenção de resultados conclusivos nos estudos clínicos de eficácia para esse tipo de pele.

A formulação desenvolvida apresenta-se como um produto inovador e diferenciado, com eficácia e sensorial agradável e compatível ao uso na pele oleosa. Além disso, o extrato de caju melhorou ainda mais o sensorial da formulação e mostrou eficácia pré clínica, com potencial antioxidante e, eficácia clínica no controle da oleosidade e melhoria das condições da pele oleosa.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTAL, T.S.; JALES, K.A.; GARRUTI, D.S.; PADILHA, V.A.; LIMA, J.B.; AGUIAR, M.J.; PAIVA, J. R. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. nanum disponíveis no Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1075-1080, 2004.

ALESTAS, T.; GANCEVICIENE, R.; FIMMEL, S.; MULLER-DECKER, K.,ZOUBOULIS, C.C. Enzymes involved in the biosynthesis of leukotriene B4 and prostaglandin E2 are active in sebaceous glands. **J Mol Med**, v. 84, p. 75-87, 2006.

BALDWIN, H.E. The interaction between acne vulgaris and the psyche**. Cutis**, v.70, p.133-9, 2002.

BAUMANN, L. Understanding and Treating Various Skin Types: The Baumann Skin Type Indicator. **Dermatol Clin**, v. 26, p. 359-373, 2008.

BAUMANN, L. SOGOLSAGHARI S, WEISBERG E. The Baumann Skin Typing System. **Dermatol Clin**, v.25, p. 501-510, 2009.

BECHELI, L.M.; CURBAN, G.V. Compêndio de dermatologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1975, p.588.

BELE, A. A.; JADHAV, V. M.; KADAM, V.J. Potential of tannins: a Review. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 4, p. 209-214, 2010

BIELFELDT, S.; BÖHLING, A.; WILHELM, P. K. Bioengineering Methods to Assess Aging Parameters in the Depth of the Skin. **SOFW-Journal,** v. 3, p. 1-8, 2011.

CAVALCANTE, A. A. M.; RUBENSAM, G.; PICADA, J. N.; SILVA, E. G.; MOREIRA,A J. C. F., HENRIQUES, J. C. Mutagenicity, Antioxidant Potential, and Antimutagenic Activity Against Hydrogen Peroxide of Cashew (Anacardiumoccidentale) Apple Juice and Cajuina. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 41, p.360-369, 2003.

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

COLIPA PROJECT TEAM IV, In vitro photoprotection method. Method for the in vitro determination of UVA protection provided by sunscreen products. Guideline, 2007.

CONTET- AUDONNEAU, J.L.; JEANMAIRE, C.; PAULY, G. A histological study of human wrinkle structures: comparison between sun-exposed areas of the face, with or without wrinkles, and sun-protected areas. **Br J Dermatol,** v. 140, n. 6, p. 1038-47, 1999.

COURAGE, KAZAKA (2004). Information and operating instructions for the multi probe adapter MPA and its probes. Available at http://www.courage-kazaka.de.

DAL'BELO, S. E.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques**. Skin Res Technol,** v.12, 2006.

DE PAEPE, K.; LAGARDE, J. M.; GALL, Y.; ROSEEUW, D.; ROGIERS, V, Microrelief of the skin using a light transmission method. **Arch Dermatol Res**, v. 292, p. 500–510, 2000.

DIFFEY, B.L.; TANNER, P.R.; MATTS, P.J.; NASH, F. In vitro assessment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products. **J Am Acad Dermatol**, v.43, p.1024-1035, 2000.

DOBREV, H.P. Clinical and instrumental study of the efficacy of a new sebum control cream. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v.6, p.113–118, 2007.

DOWNING, D.T.; STRAUSS, J.S. On the mechanism of sebaceous secretion. **Arch Dermatol Res,** v. 272, p. 343-349, 1982.

SMITH, M., Toners and Astringents. In: DRAELOS, Z. D.; THAMAN, L. A. **Cosmetic Formulation of Skin Care Products**, 1. ed., 2006. cap. 5 – p. 449.

DRAELOS, Z.D.; DINARDO, J.C. A re-evaluation of the comedogenicity concept. **J Am Acad Dermatol,** v. 54, p.507-512, 2006.

DWECK, A. C.; TOILETRIES, P. B. Natural Extracts and Herbal Oils: Concentrated Benefits for the Skin. **Cosmetics and Toiletries**, v. 107, p. 89-98, 1992.

FARIAS G. A.; ARAÚJO E. R.; SAPUCAY M. J. L. C.; COLARES P. N. Q.; PEDROZA C. M.; RÊGO E. R.; RÊGO M. M. Caracterização física e química de genótipos de caju. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, 2009.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (US). Sunscreen drug products for over-the-counter human use. Fed Regist. v. 64, p. 1-11, 1999.

GILABERTEA, Y.; GONZÁLEZ, S. Update on Photoprotection. **Actas Dermosifiliogr**. v.101, p.659–672, 2010.

GOMES, A. L.; LANGER, C. M.; OLIVEIRA, E. C.; VAIROLETTO, L. Diferentes tipos de pele: diferentes necessidades cosméticas.In: **CONGRESSO NACIONAL DE COSMETOLOGIA**, 12, 12998. São Paulo, Anais . São Paulo, 1998.p. 220-231.

GREENE, R.S.; DOWNING, D.T.; POCHI, P.E.; STRAUSS, J.S. Anatomical variation in the amount and composition of human skin surface lipid. **J Invest Dermatol**, v. 54, p. 240-247, 1970.

GUERRERO, D. Dermocosmetic approach to acne by the dermatologist. **Annales de dermatologie**. v. 137, n. 5, p. 29-32, 2010

HOJEROVÁ, J.; MEDOVCÍKOVÁ, A.; MIKULA, M.; Photoprotective efficacy and photostability of fifteen sunscreen products having the same label SPF subjected to natural sunlight. **Int. J. Pharm**, v. 408, p. 27-38, 2011.

HUMBERT, P**.** Induced acne. **Rev Prat.** v.15, p.838-840, 2002.

HUMBERT, P. G.; HAFTEK, M.; CREIDI, P.; LAPIERE, C.; NUSGENS, B.; RICHARD, A. Topical ascorbic acid on photoaged skin. Clinical, topographical and ultrastructural evaluation: double-blind study vs. placebo. **Exp. Dermatol.** v.12, p.237–244, 2003.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J**. Histologia Básica**. 10 ed. Rio de Janeiro, RJ, Editora Guanabara Koogan, 2004, p. 359-370.

KATSUTA, Y.; IIDA, T.; INOMATA, S.; DENDA, M. Unsaturated Fatty AcidsInduce Calcium Influx into Keratinocytes and Cause Abnormal Differentiation of Epidermis. **J. Invest. Dermatol**, v. 124, p.1008–1013, 2005.

KATUSHIRO, M.; YURI, O.; HITOSHI, M.; HIROMU, S. Effect of Free Fatty Acids in Sebum on Epidermal Barrier Function. **Journal of SCCJ,** v. 35, p.133-140, 2001.

KIM, B.; CHOI, J.; PARK, K., YOUN, S. Sebum, acne, skin elasticity, and gender difference - which is the major influencing factor for facial pores? **Skin Res. Technol**, Dec. 28, 2011.

KIM. M. K.; CHOI, S.Y.; BYUN, H. J.; HUH, C. H.; PARK, K. C.; PATEL, R. A.; SHINN, A. H.; YOUN, S. W. Comparison of sebum secretion, skin type, pH in humans with and without acne. **Arch Dermatol Res,** v. 298, p.113-119, 2006.

KLEIN, K. Formulators forum. **Cosm. Toil**, New York, v, 114, n. 15, p. 42-45, 1999.

KLIGMAN, A.M., MILLS, O.H. JR. Acne cosmetic. **Arch Dermatol**, v.106, p. 843-850, 1972.

KOH, J. S.; KANG, H.; CHOI, S. W.; KIM, H. O. Cigarette smoking associated with premature facial wrinkling: image analysis of facial skin replicas. **Int J Dermatol,** v. 41, p. 21-27, 2002.

KUBO, I.; HA, T. J.; TSUJIMOTO, K.; TOCOLI, F. E.; GREEN, I. R. Evaluation of lipoxygenase inhibitory activity of anacardic acids. **Z. Naturforsch C**, v. 63, n.7-8, p. 539-546, 2008.

KUBO, I.; MASUOKA, N.; HA, T. J.; TSUJINOMOTO, K. Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chemistry**, v.99,p. 555–562, 2006. Contact Dermatitis. v.2, p.1–17. 1976.

KUROKAWA, I.; DANBY, F. W.; JU, Q.; WANG, X.; XIANG, L. F.; XIA, L.; CHEN, W., NAGY, I.; PICARDO, M; SUH, D.H.; GANCEVICIENE, R.; SCHAGEN, S.; TSATSOU, F.; ZOUBOULIS, C. C. New developments in our understanding of acne pathogenesis and treatment. **Exp Dermatol**, v. 18, p. 821-832, 2009.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. Application of a non-invasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. **J Cosmet Sci**, v. 53 , p. 263-268, 2002.

LETAWE, C., BOONE, M., PIÉRARD, G. E. Digital image analysis of the effect of topically applied linoleic acid on acne microcomedones. **Clin Exp Dermatol**, v. 23, p.56-58, 1998.

LODE, M.; ANDERSSON, A. C.; ANDERSSON, C.; FRÖDIN, ÖMAN H.; LINDBERG, M. Instrumental and dermatologist evaluation of the effect of Glycerine and urea on dry skin in atopic dermatitis. **Skin Res Technol,** v. 7, p. 209–213, 2001.

LONGO, C., CASARI, A.; BERETTI, F.; CESINARO, A. M.; PELLACANI, G._Skin aging: in vivo microscopic assessment of epidermal and dermal changes by means of confocal microscopy. **J. Am. Acad. Dermatol,** v.13, 2011.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; BADRA, M. V. L. Estudo da estabilidade física de bases dermocosméticas contendo ésteres fosfóricos. **Aerosol & Cosméticos**, v.79: 8-11, 1992. CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE - Resolução 196/96 do Ministério da Saúde. Diário Oficial, 16/10/1996.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; GONÇALVES, G. M. S.; GASPAR, L. R. In vitro antioxidant activity and in vivo efficacy of topical formulations containing vitamin C and its derivatives studied by non-invasive methods. **Skin Research and Technology**, v.14, 376-380, 2008.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; MERCURIO, D. G. Farmacologia e a pele. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 66, p. 15-21, 2009.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; MERCURIO, D.G. **Formas e Veículos Cosmecêuticos**. In: "Cosmecêuticos & Dermatologia". 1. ed. Rio de janeiro, RJ, 2011,

MASAKI, H. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. **J. Dermatol. Sci**. v. 58, n. 2, p. 85-90, 2010.

MENON, G. K.; BRADSMA, J. L.; SCHWARTS, P. M. Particle-mediated gene delivery and human skin: ultrastructural observations on stratum corneum barrier structures. **Skin Pharmacology Physiology**, v.40, p.141-147, 2007.

MENON, G. K.; KLIGMAN, A. M. Barrier Functions of Human Skin: A Holistic View. **Skin Pharmacol Physiol,** vol. 22, p. 178-189,2009.

MURAKAMI, M.; KAWAMURA, A.; JIE, G.; TANNO, O. Morphological analysis of facial pores and factors related to changes with aging in pore shape. **IFSCC Congress** (2006)

PEDERNSON, L.; JEMEC, G. B. Mechanical properties and barrier function of healthy human skin. **Acta Derm Venereol**, v. 86, p. 308–311, 2006.

PELLACANI, G.; SEIDENARI, S. Variations in Facial Skin Thickness, v. 79, p. 366-369, 1999.

PETER, M. E.; BROWN, B.; ZIBOH, V. A. The Permeability Barrier in Essential Fatty Acid Deficiency: Evidence for a Direct Role for Linoleic Acid in Barrier Function. **Journal of Investigative Dermatology,** v. 74, p. 230–233, 1980.

PICARDO. M.; OTTAVIANI, M.; CAMERA, E.; MASTROFRANCESCO, A. Sebaceous gland lipids.**Dermatoendocrinol,** v.1, p. 68-71, 2009.

PIÉRARD-FRANCHIMONT, C.; PIÉRARD, G. E.; KLIGMAN, A. Seasonal Modulation of Sebum Excretion. **Dermatologica**, v. 181, p. 21–22, 1990.

PIERARD, G.E.; PIERARD-FRANCHIMONT, C.; MARKS, R.; PAYE, M.; ROGIERS, V. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin greasiness. The EEMCO Group. **Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.**; v. 13, p. 372–389, 2000.

QUEIROZ, C.; LOPES, M. L; FIALHO, E.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, p. 1459–1462, 2011.

QUIROGA, M.; GUILLOT, C. Classificasion Cosmetica de los Tipos de Piel por los Caracteres Secretorios, **Cosmetica Dermatologica Pratica**, 5th, edn. Buenos Aires: El Ateneo, 1996. Chapter 8, p. 32-34,

RAMLI, R.; HANI A. F. M.; JAMIL, A. Acne analysis, grading and computational assessment methods: an overview. **Skin Research and Technology**, p.1–14, 2011.

RIBEIRO, R. P. **Desenvolvimento e validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS in vitro em formulações fotoprotetoras comerciais**. 2004, 104p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, 2004.

ROBERTS, W.E. Skin Type: Classification Systems Old and New. **Dermatol. Clin.** v. 27, p. 529-533, 2009

RODRIGUES, L. Bioengenharia cutânea: metodologias não invasivas de abordagem na pele. **Rev. Cosmiat. Med. v. 5, n. 2,** São Paulo, 1997, p. 26-35.

SANTOS, R. M. S.; SANTOS, M. F. Qumioluminescência e bioluminescência. **Química Nova**, v. 16, n.3, 1993.

SILVA, P. K.; FARIAS, G. A.; ARAÚJO, E. R.; SAPUCAY, M. J. L. C.; COLARES, P. N. Q.; PEDROZA, C. M.; RÊGO, E. R.; RÊGO, M. M. 2009. Caracterização física e química de genótipos de caju. **Horticultura Brasileira,** v. 27, n. 2, 2009.

SIMPSON, R.C.; GRINDLAY, D.J.; WILLIAMS, H.C. What's new in acne? An analysis of systematic reviews and clinically significant trials published. **Clin Exp Dermatol**, v. 36 , p.840- 843, 2011 .

SLINKARD, K; SINGLETON, V, L. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. **Am. J. Enol. Vitic**., v.28, n.1, p. 49-55, 1977

SUGATA, K.; NISHIJIMA, T.; KITAHARA, T.; TAKEMA, Y. Confocal laser microscopic imaging of conspicuous facial pores in vivo: relation between the appearance and the internal structure of skin. **Skin Research and Technology**, v. 14, p. 208-212, 2008

TACHINARDI, F.; SÁ DIAS, T. C.; PICRILI, C. A. D.; GOMES, A. L.; ARRUDA, R. Avaliação sensorial de produtos cosméticos na pele. In: **XVII COLAMIQC**, 2005, Cusco CD-ROM, 2005.

THIBOUTOT, D.; ZAENGLEIN, A.; WEISS, J.; WEBSTER, G.; CALVARESE, B.; CHEN, D. An aqueous gel fixed combination of clindamycin phosphate 1.2% and benzoyl peroxide 2.5% for the once-daily treatment of moderate to severe acne vulgaris: assessment of efficacy and safety in 2813 patients. **J. Am. Acad. Dermatol.** v. 59, p. 792-800, 2008.

TOUITOU, E.; GODIN, B. Skin nonpenetrating sunscreens for cosmetic and pharmaceutical formulations. **Clinics in Dermatology. v.** 26, p. 375–379, 2008.

UHODA, E.; PIÉRARD-FRAHCHIMONT, P. L; PIÉRARD, G.E. The Conundrum of Skin Pores in Dermocosmetology. **Dermatology**, v. 210, p. 3- 7, 2005.

VELASCO, M. V. R.; BALOGH, T. S.; PEDRIALI, C. A.; SARRUF, F. D.; PINTO, C. A. S. O.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (in vitro)- revisão. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**., v. 32, p. 27-34, 2011.

WA, C. V.; MAIBACH, H. I. Mapping the human face: biophysical properties. **Skin. Res. Technol**. v.16, p.38-54, 2010.

WORTEL, V.A. L.; WIRCHERS, J.W. Skin sensory performance of individual personal care ingredients and marketed personal care products, v. 11, n. 1, p. 121-127, 2000.

YAMAMURA, T.; MARUYAMA, K.; MASAKI, H.; ITO, M. Epidermal barrier disruption induced by excess sebum secretion. **J. Dermatol. Sci.**, v.15, p. 121-212, 1997

YAZICI, K.; BAZ, K.; YAZICI, A. E.; KOKTURK, A.; TOT, S.; DEMIRSEREN, D. Disease-specific quality of life is associated with anxiety and depression in patients with acne. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol,** v. 18, p. 435-9, 2004.

YOUN, S.W.; NA, I. J.; CHOI, S. Y.; HUH, C. H.; PARK, K. C. Regional and seasonal variations in facial sebum secretions: a proposal for the definition of combination skin type. **Skin Research and Technology**, v.11, p. 189-195, 2005a.

YOUN, S.W.; PARK, E.S.; LEE, D.H.; HUH, C.H.; PARK, K.C. Does facial sebum excretion really affect the development of acne? **Br. J. Dermatol,** v. 153, n. 5, p. 919-24, 2005b.

ZOUBOULIS, C.C. Acne and Sebaceous Gland Function. **Clinics in Dermatology**, v. 22, p.360-366, 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Tabela 14 – Conteúdo aquoso no estrato córneo, conteúdo de sebo no infundíbulo, aspereza (Ser) e perda transepidermica de água do Grupo 1 (pele normal e seca) e Grupo 2 (pele oleosa) do estudo de classificação e caracterização dos tipos de pele.

Conteúdo aquoso do estrato córneo		Conteúdo de sebo no infundíbulo		Aspereza (Ser)		Perda transepidermica de água	
Grupo 1	**Grupo 2**	**Grupo 1**	**Grupo 2**	**Grupo 1**	**Grupo 2**	**Grupo 1**	**Grupo 2**
57,8	59,1	0	1,28	1,25	2,32	22,1	19,5
68,3	63,8	0,01	4,27	1,9	2,46	15	25,1
50,1	41,5	0,01	0,08	1,64	2,22	19,1	17,3
71,5	29,3	3,24	0,4	2,27	1,62	11,4	18,2
63,7	58,5	0,01	3,25	2,71	3,22	23,4	24,2
77,4	30,5	0,12	3,3	1,01	2,07	19,1	25,8
55,9	47,2	0,62	0,46	1,68	1,8	19	23,09
53,9	54,8	0,65	0,68		3,03	18,3	23,4
	70,1		2,45		2,64		23,09
	57,9		2,93		2,67		21,7
	43,9		1,58		2,17		25,95
	56,7		0,57		2,55		25,75
	53,6		1,28		1,97		21,3
	43		1,05		3,3		24,13
	45,4		0,42		1,68		21,18
	41,6		0,28		1,06		17,05

APÊNDICE B

Tabela 15 – Aspereza (Ser) das diferentes regiões da face (Região malar, Queixo e Nariz) no estudo de padronização de técnicas de análise de imagem, caracterização e contagem de poros e comedões.

	Região malar	Queixo	Nariz
1	2,71	3,88	5,12
2	3,36	2,62	2,97
3	2,37	2,81	3,589
4	2,26	3,75	1,36
5	3,44	5,71	3,92
6	2,53	5,89	4,31
7	2,04	3,03	2,04
8	1,50	3,95	2,93
9	3,83	2,13	6,69
10	1,86	2,90	3,93
11	1,8	2,68	3,17
12	2,01	2,19	2,68
13	2,30	2,22	2,80
14	2,61	1,81	1,49
15	2,76	4,28	6,88
16	2,96	2,18	8,23
17	1,26	2,95	5,00
18	1,59	2,22	2,19
19	1,44	2,19	4,03

APÊNDICE C

Tabela 16 – Rugosidade (Rt) das diferentes regiões da face (Região malar, Queixo e Nariz) no estudo de padronização de técnicas de análise de imagem, caracterização e contagem de poros e comedões.

	Região malar	Queixo	Nariz
1	73,0	79,0	76,0
2	73,3	66,5	51,3
3	64,3	83,0	67,7
4	75,3	55,0	48,0
5	70,0	71,6	79,0
6	57,0	63,0	71,5
7	71,6	54,8	78,0
8	61,3	64,0	78,4
9	109,0	64,6	133,3
10	64,3	59,3	80,2
11	61,6	48,6	57,3
12	65,0	61,6	68,0
13	65,0	73,3	68,0
14	51,0	55,3	47,3
15	72,3	62,0	69,0
16	72,6	63,0	74,0
17	68,0	77,6	63,0
18	57,6	73,0	69,3
19	81,6	67,0	68,0

APÊNDICE D

Tabela 17 – Contagem de comedões pelo Visioface® VC 98 de diferentes regiões da face (Região malar, Queixo e Nariz) no estudo de padronização de técnicas de análise de imagem, caracterização e contagem de poros e comedões.

	Região malar	**Queixo**	**Nariz**
1	20	31	30
2	4	2	10
3	10	4	13
4	22	2	24
5	9	22	27
6	16	17	26
7	2	2	20
8	5	6	25
9	22	24	13
10	3	4	3
11	0	2	20
12	13	1	16
13	5	16	24
14	0	7	2
15	16	7	22
16	6	4	40
17	3	10	2
18	6	5	4
19	11	23	11

APÊNDICE E

Tabela 18 – Quantidade de sebo no infundíbulo (mm²) de diferentes regiões da face (Região malar, Queixo e Nariz) no estudo de padronização de técnicas de análise de imagem, caracterização e contagem de poros e comedões.

	Região malar	Queixo	Nariz
1	8344,60	10796,00	10478,00
2	26541,00	9092,40	1456,80
3	8269,10	16012,00	33795,00
4	480,64	1131,10	2,98
5	18913,00	25617,00	10263,00
6	5654,40	4369,40	9346,60
7	15,89	555,11	1,32
8	4534,30	5869,90	5017,90
9	42138,00	23683,00	32924,00
10	124,13	1945,40	7096,30
11	529,29	740,81	669,31
12	106,26	2805,40	5432,00
13	1200,60	2247,30	4948,40
14	434,96	756,70	325,72
15	3740,80	10357,00	38132,00
16	3362,50	4844,10	15023,00
17	5007,90	8534,30	5197,60
18	1969,20	2508,40	922,54
19	2061,55	7221,40	3196,60

APÊNDICE F

Tabela 19 – Quantidade de sebo no infundíbulo (%) de diferentes regiões da face (Região malar, Queixo e Nariz) no estudo de padronização de técnicas de análise de imagem, caracterização e contagem de poros e comedões.

	Região malar	Queixo	Nariz
1	2,74	3,54	3,43
2	8,70	2,98	0,48
3	2,71	5,25	11,08
4	0,16	0,37	0,00
5	6,20	8,40	3,36
6	1,85	1,43	3,06
7	0,01	0,18	0
8	1,49	1,92	1,64
9	13,81	7,76	10,79
10	0,04	0,64	2,33
11	0,17	0,24	0,22
12	0,03	0,92	1,78
13	0,39	0,74	1,62
14	0,14	0,25	0,11
15	1,23	3,39	12,50
16	1,10	1,59	4,92
17	1,64	2,80	1,70
18	0,65	0,82	0,30
19	0,845	2,37	1,05

APÊNDICE G

Tabela 20 – Contagem de glândulas sebáceas ativas de diferentes regiões da face (Região malar, Queixo e Nariz) no estudo de padronização de técnicas de análise de imagem, caracterização e contagem de poros e comedões.

	Região malar	Queixo	Nariz
1	167	150	95
2	490	398	13
3	404	510	394
4	13	57	1
5	225	328	51
6	114	110	68
7	1	16	1
8	125	208	64
9	340	248	249
10	10	74	137
11	42	54	33
12	9	106	75
13	30	67	62
14	34	60	23
15	73	217	199
16	188	136	68
17	96	252	46
18	77	101	23
19	46,5	208	19

APÊNDICE H

Tabela 21 – Quantidade de poros pequenos, grandes e poros totais de diferentes regiões da face (Região malar, Queixo e Nariz) no estudo de padronização de técnicas de análise de imagem, caracterização e contagem de poros e comedões.

	Região malar			**Queixo**			**Nariz**		
	Poros Pequenos	**Poros Grandes**	**Poros Totais**	**Poros Pequenos**	**Poros Grandes**	**Poros Totais**	**Poros Pequenos**	**Poros Grandes**	**Poros Totais**
1	17	8	25	31	5	36	28	9	37
2	36	18	54	7	3	10	13	1	14
3	38	28	66	45	18	63	14	1	15
4	26	20	46	21	3	24	8	0	8
5	34	32	66	57	23	80	35	2	37
6	21	6	27	19	12	31	44	16	60
7	10	2	12	20	7	27	14	3	17
8	20	13	33	34	3	37	9	0	9
9	40	33	73	17	12	29	9	2	11
10	8	2	10	8	3	11	8	4	12
11	15	6	21	9	1	10	32	11	43
12	11	0	11	1	1	2	1	0	1
13	11	4	15	25	17	42	18	18	36
14	1	0	1	0	0	0	0	0	0
15	21	12	33	2	2	4	18	6	24
16	16	5	21	24	6	30	37	12	49
17	5	2	7	3	1	4	4	0	4
18	16	3	19	25	3	28	4	0	4
19	18	4	22	13	15	28	24	9	33

APÊNDICE I

Tabela 22 – Contagem de comedões pelo Vivascope® 1500 de diferentes regiões da face (Região malar, Queixo e Nariz) no estudo de padronização de técnicas de análise de imagem, caracterização e contagem de poros e comedões.

	Região malar	**Queixo**	**Nariz**
1	20	33	27
2	3	2	10
3	7	6	18
4	11	2	13
5	17	49	32
6	18	20	31
7	10	4	20
8	4	9	20
9	15	22	31
10	3	10	9
11	1	3	21
12	10	11	21
13	4	19	25
14	1	5	0
15	14	4	29
16	6	5	44
17	5	16	2
18	5	12	12
19	8	15	26

APÊNDICE J

Tabela 23 – Espessura da epiderme da região malar e do queixo no estudo de padronização de técnicas de análise de imagem, caracterização e contagem de poros e comedões.

	Região malar	Queixo
1	69,8	68
2		
3	70	81
4	69	82
5	59,5	
6	68	74,3
7	65,3	60
8	63	70
9	58,5	64
10	68,3	72,75
11	67	69,3
12	59	71
13	62	67
14	77	86
15	57,8	68
16	47,8	60
17	63	73
18	59	68
19	74	70

APÊNDICE K

Tabela 24 – Valores do coeficiente de correlação de Pearson para os parâmetros avaliados na região malar.

	Ser	Rt	Seb %	Cont. glan.	Comed. Vivascope	Comed. visioscan	Cont. poros
Ser		0,467004	0,740082	0,742618	0,593235	0,398715	0,447755
Rt	0,467004		0,706559	0,702945	0,295465	0,584808	0,431124
Seb %	0,740082	0,706559		0,999942	0,73575	0,339247	0,308415
Cont. glan.	0,742618	0,702945	0,999942		0,736494	0,338009	0,307993
Comed. Vivascope	0,593235	0,295465	0,73575	0,736494		0,070074	0,014626
Comed. visioscan	0,398715	0,584808	0,339247	0,338009	0,070074		0,81283
Cont. poros	0,447755	0,431124	0,308415	0,307993	0,014626	0,81283	

Tabela 25 – Valores do coeficiente de correlação de Pearson para os parâmetros avaliados na região do queixo.

	Ser	Rt	Seb %	Cont. glan.	Comed. Vivascope	Comed. visioscan	Cont. poros
Ser		0,068874	0,291175	0,291345	0,170776	0,239897	0,422348
Rt	0,068874		0,502048	0,50164	0,609023	0,444165	0,47813
Seb %	0,291175	0,502048		0,999999	0,704611	0,55857	0,637326
Cont. glan.	0,291345	0,50164	0,999999		0,704445	0,558408	0,637074
Comed. Vivascope	0,170776	0,609023	0,704611	0,704445		0,092441	0,132719
Comed. visioscan	0,239897	0,444165	0,55857	0,558408	0,092441		0,817433
Cont. poros	0,422348	0,47813	0,637326	0,637074	0,132719	0,817433	

Tabela 26 - Valores do coeficiente de correlação de Pearson para os parâmetros avaliados na região do nariz.

	Ser	**Rt**	**Seb %**	**Cont. glan.**	**Comed. Vivascope**	**Comed. visioscan**	**Cont. poros**
Ser		0,515511	0,638025	0,638209	0,37325	0,37384	0,642468
Rt	0,515511		0,54782	0,548084	0,483114	0,102948	0,47459
Seb %	0,638025	0,54782		1	0,880565	0,168583	0,440503
Cont. glan.	0,638209	0,548084	1		0,880435	0,169048	0,440863
Comed. Vivascope	0,37325	0,483114	0,880565	0,880435		-0,03665	0,197869
Comed. visioscan	0,37384	0,102948	0,168583	0,169048	-0,03665		0,813415
Cont. poros	0,642468	0,47459	0,440503	0,440863	0,197869	0,813415	

APÊNDICE L

Tabela 27 – Valores do nível de significância (p-value) para os parâmetros avaliados na região malar.

	Ser	Rt	Seb %	Cont. glan.	Comed. Vivascope	Comed. visioscan	Cont. poros
Ser		0,037898	0,000191	0,000177	0,005832	0,081623	0,047735
Rt	0,037898		0,000497	0,000546	0,205963	0,006763	0,057717
Seb %	0,000191	0,000497		7,64E-37	0,000218	0,143391	0,185839
Cont. glan.	0,000177	0,000546	7,64E-37		0,000213	0,144951	0,186473
Comed. Vivascope	0,005832	0,205963	0,000218	0,000213		0,769093	0,9512
Comed. visioscan	0,081623	0,006763	0,143391	0,144951	0,769093		1,33E-05
Cont. poros	0,047735	0,057717	0,185839	0,186473	0,9512	1,33E-05	

Tabela 28- Valores do nível de significância (p-value) para os parâmetros avaliados na região do queixo.

	Ser	Rt	Seb %	Cont. glan.	Comed. Vivascope	Comed. visioscan	Cont. poros
Ser		0,772945	0,212936	0,212656	0,471604	0,308323	0,063585
Rt	0,772945		0,024093	0,024226	0,00437	0,049768	0,032978
Seb %	0,212936	0,024093		0	0,000523	0,010471	0,002507
Cont. glan.	0,212656	0,024226	0		0,000525	0,010499	0,00252
Comed. Vivascope	0,471604	0,00437	0,000523	0,000525		0,698297	0,576982
Comed. visioscan	0,308323	0,049768	0,010471	0,010499	0,698297		1,08E-05
Cont. poros	0,063585	0,032978	0,002507	0,00252	0,576982	1,08E-05	

Tabela 29 - Valores do nível de significância (p-value) para os parâmetros avaliados na região do nariz.

	Ser	Rt	Seb %	Cont. glan.	Comed. Vivascope	Comed. visioscan	Cont. poros
Ser		0,023881	0,003289	0,003277	0,115484	0,114864	0,003014
Rt	0,02388		0,015179	0,01512	0,03614	0,674928	0,040059
Seb %	0,00328	0,015179		0	6,55E-07	0,490249	0,05908
Cont. glan.	0,00327	0,01512	0		6,61E-07	0,489035	0,058849
Comed. Vivascope	0,11548	0,03614	6,55E-07	6,61E-07		0,881591	0,416783
Comed. visioscan	0,114864	0,674928	0,490249	0,489035	0,881591		2,28E-05
Cont. poros	0,003014	0,040059	0,05908	0,058849	0,416783	2,28E-05	

APÊNDICE M

Resultados do estudo de avaliação sensorial para as formulações F15 (formulação fotoprotetora - veículo) e F15C (formulação fotoprotetora + 3,5% extrato de caju).

Tabela 30 - Oleosidade e resíduo de oleosidade

	OLEOSIDADE		RESÍDUO DE OLEOSIDADE	
	F15	F15C	F15	F15C
1	1,4	2,72	1,3	0
2	2,6	0	2,61	0
3	0	0	0	0
4	2,4	2,93	0,1	2,82
5	0	0	2,5	2,6
6	2,5	4,8	0	2,86
7	0	1,7	0	5,76
8	8,04	7,28	6,73	1,3
9	3,04	7,4	0,43	1,63
10	1,3	2,83	0,65	5,43
11	2,83	8,5	0,33	8,1

Tabela 31 –Absorção e absorção após 5 minutos.

	ABSORÇAO		ABSORÇAO APÓS 5 MIN	
	F15	F15C	F15	F15C
1	10	10	10	10
2	5,43	6,52	10	6,1
3	3,1	3,36	3,1	7,06
4	4,45	2,17	5,76	4,13
5	2,7	4,56	6,95	6,52
6	0,97	5,32	5,43	10
7	7,94	1,42	1,3	1,74
8	3,8	1,53	7,93	10
9	0,43	4,13	5,43	8,3
10	4,9	3,15	5,22	6,63
11	0,2	0,8	1,9	8,26

Tabela 32 - Brilho e resíduo de brilho.

	BRILHO		RESÍDUO DE BRILHO	
	F15	F15C	F15	F15C
1	1,85	4,35	0,1	0
2	0	1,85	0	0
3	0	7,4	0	1,73
4	5,1	3,26	2,93	0,3
5	1,95	1,74	0	1,63
6	6,52	4,89	0,97	0
7	5,22	6,3	1,84	1,08
8	0	7,93	5,2	0
9	9,02	5,98	0,87	0,97
10	0,65	1,85	0,2	1,41
11	9,5	5,54	8,7	0.22

Tabela 33 – Parâmetros resíduo branco e espalhabilidade.

	RESÍDUO BRANCO		ESPALHABILIDADE	
	F15	F15C	F15	F15C
1	0,65	2,5	3,7	6,09
2	4,89	1,74	3,59	3,37
3	7,06	7,6	5,76	3,15
4	6,08	5,3	5,5	4,89
5	1,84	6,85	7,3	7,6
6	7,93	3,58	4,6	4,78
7	0,32	6,63	7,93	4,23
8	5,65	8,04	7,82	3,9
9	7,06	4,78	5,33	8,04
10	0,65	2,5	6,74	8,04
11	9,5	7,83	4,9	3,8

Tabela 34 – Pegajosidade e resíduo de pegajosidade.

	PEGAJOSIDADE		RESÍDUO DE PEGAJOSIDADE	
	F15	F15C	F15	F15C
1	1,52	1,96	2,06	2,71
2	2,72	2,28	2,5	2,72
3	1,08	0	0	0
4	6,19	4,9	4,02	1,63
5	0	0	0	0
6	1,8	0	2,29	0
7	0,32	5	0	0,1
8	2,28	1,85	0	2,28
9	8,57	0,76	3,04	0,43
10	1,41	0,76	2,82	0.,98
11	8,8	7,92	4,02	1,74

Tabela 35 – Resultados para os parâmetros no estudo de avaliação sensorial

	SUAVIDADE DA PELE		SUAVIDADE DA PELE APÓS 5 MIN	
	F15	F15C	F15	F15C
1	1,8	6,52	3,7	6,52
2	2,5	2,17	2,28	1,85
3	6,63	7,06	7,93	6,95
4	2,6	3,15	1,6	1,41
5	6,2	10	6,19	10
6	2,12	7,6	8,04	8,15
7	4,13	2,7	6,63	4,13
8	7,71	2,28	6,63	6,7
9	0,65	1,6	0	1,85
10	1,52	4,8	3,04	7,5
11	8,26	7,72	2,5	8,26

Tabela 36 – Esfarelamento e esfarelamento após 5 minutos

	ESFARELAMENTO		ESFARELAMENTO APÓS 5 MIN	
	F15	F15C	F15	F15C
1	0	0	0,1	0,1
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0,4	0	0	0
5	0	0	0	0
6	0	0	0	0,54
7	5	0,32	2,17	1,08
8	0	0	0	0
9	1,52	0	6,52	0
10	0	0	0	0
11	0,98	0,22	0	0,54

Tabela 37 – Hidratação e hidratação após 5 minutos

	HIDRATAÇÃO		HIDRATAÇÃO APÓS 5 MIN	
	F15	F15C	F15	F15C
1	2,82	2,4	0,98	2,5
2	2,5	2,17	2,28	2,72
3	8,4	7,5	8,26	7,6
4	4,02	4,9	5,9	2,6
5	3,1	4,56	4,34	4,56
6	5,83	1,63	8,5	1,08
7	5,86	1,52	5,86	2,83
8	8,15	10	7,71	6
9	0,2	6,52	-	6,96
10	6,4	2,17	4,9	2,82
11	7,6	8,04	8,5	8,6

Tabela 38 – Toque aveludado e toque aveludado após 5 minutos

	TOQUE AVELUDADO		TOQUE AVELUDADO APÓS 5 MIN	
	F15	F15C	F15	F15C
1	1,3	2,17	1,2	6,74
2	0	2,72	0	0
3	0	1,95	6,3	6,63
4	0,65	3,8	5,43	1,95
5	10	4,13	10	4,35
6	6,8	7,6	7,17	5,22
7	3,15	0,65	5,76	1,3
8	7,06	1,73	7,2	7,28
9	0,54	0,43	0	2,06
10	2,5	1,3	2,5	0,43
11	0,54	3,26	8,2	8,26

APÊNDICE N

Tabela 39 – Conteúdo aquoso do estrato córneo antes, e após duas e quatro horas de uma única aplicação das formulações F15 e F15C.

	F15	F15C
Tempo Inicial	46,25	45,5
	34,25	33
	62,5	53
	44,4	43
	61,6	54,8
	47,6	51
	68,4	67,4
	54,83	49,4
	63	68
	41,4	48
	29,14	52
	60,2	58
2horas	56,2	50,6
	43,25	35,8
	62,25	58
	41,25	42,5
	59,83	59
	35,6	39,16
	54,4	61,4
	65,4	58,67
	57	67,16
	43,77	48,16
	50	58,33
	47,4	50,2
4 horas	56	44,2
	41,5	39,25
	61,5	69,25
	41,2	47,4
	59	54,16
	37,6	37,8
	63,8	67
	59,5	55
	57,75	67,16
	48,8	47,6
	54,85	57,5
	44,8	49,4

APÊNDICE O

Tabela 40- Perda transepidérmica de água antes e após duas e quatro horas de uma única aplicação da formulações F15 e F15C.

	F15	F15C
Tempo Inicial	16,1	14,7
	13,5	12,4
	10,1	8,3
	16,9	21,2
	16,4	17,8
	9,1	7,8
	12,3	9
	12,7	14,1
	5,5	9,6
	9	10,3
	6	8,2
	8,7	8,7
2horas	15	13,5
	11,9	13,8
	9,2	8,9
	16,7	15,8
	12,5	14,1
	10,5	8,2
	11	8,2
	9,4	11,7
	5,5	8,4
	8,6	9,7
	6,3	7,7
	10,5	10,9
4 horas	10,9	10,2
	13,7	13,5
	8,1	8,2
	16	20,2
	13,3	15
	8,4	6
	10,2	9,1
	9,7	12,8
	6,1	8,8
	7,9	8,7
	5,9	8,2
	8,8	9,3

APÊNDICE P

Tabela 41 – Resultados para os parâmetros aspereza (Ser), descamação (Sesc), maciez (Sesm) e rugosidade (Rt) antes, e após duas e quatro horas de uma única aplicação das formulações F15 e F15C.

	Ser		**Sesc**		**Sesm**		**Rt**	
	F15	**F15C**	**F15**	**F15C**	**F15**	**F15C**	**F15**	**F15C**
Tempo Inicial	2,500	4,470	0,430	0,470	29,670	37,150	55,000	78,000
	2,960	3,010	0,370	0,540	32,920	34,970	61,000	55,000
	1,080	1,110	0,900	0,830	39,720	28,910	54,000	49,000
	2,340	3,460	0,260	0,370	33,240	36,920	53,000	58,000
	2,260	1,680	0,850	0,540	35,480	34,310	59,000	51,000
	3,020	2,160	0,710	0,730	45,900	49,680	73,000	81,000
	1,550	1,480	0,570	0,510	33,620	35,700	56,000	60,000
	1,380	1,510	0,530	0,270	26,740	23,370	49,000	45,000
	1,390	1,280	0,580	0,240	34,540	25,650	52,000	43,000
	1,340	1,770	0,800	0,870	28,410	30,430	48,000	52,000
	0,960	2,100	0,870	0,630	23,840	25,080	47,000	45,000
	1,230	1,000	0,760	1,260	26,570	25,970	47,000	53,000
2horas	1,800	2,160	0,870	0,400	42,800	45,820	59,000	61,000
	1,470	1,690	0,590	0,690	47,000	48,410	64,000	66,000
	1,040	1,420	0,620	0,500	33,290	34,130	46,000	48,000
	1,090	1,220	0,590	0,570	42,860	42,490	55,000	52,000
	1,170	1,050	0,770	0,740	40,170	46,100	58,000	63,000
	2,520	2,570	0,490	0,600	43,910	39,420	60,000	59,000
	1,380	0,810	0,270	0,430	27,980	25,180	43,000	38,000
	2,330	2,880	0,49	0,710	35,510	29,620	51,000	42,000
	1,000	1,950	0,590	0,450	30,360	29,720	47,000	46,000
	2,020	1,060	0,580	0,640	26,000	38,340	39,000	52,000
	3,110	1,760	0,440	0,450	34,330	28,130	51,000	42,000
	0,720	0,900	0,470	0,580	35,300	26,780	49,000	39,000
4 horas	1,810	2,430	0,630	0,840	51,840	36,920	65,000	61,000
	2,330	2,410	0,670	0,770	44,030	53,120	62,000	71,000
	1,920	2,240	0,590	0,590	34,490	30,730	51,000	47,000
	1,630	1,920	0,720	0,720	53,460	58,350	70,000	70,000
	1,920	1,980	0,820	0,470	45,320	45,050	60,000	61,000
	3,020	2,120	0,460	0,520	39,890	32,850	56,000	50,000
	1,260	1,780	0,340	0,300	27,180	26,870	43,000	45,000
	0,930	1,400	0,750	0,450	30,820	26,300	57,000	46,000
	1,530	1,650	0,580	0,580	37,060	28,890	55,000	43,000
	1,720	1,460	0,580	0,600	29,190	31,960	42,000	45,000
	1,510	1,600	0,470	0,630	30,430	25,220	43,000	38,000
	0,880	1,310	0,330	0,430	30,520	32,200	40,000	45,000

APÊNDICE Q

Tabela 42- Conteúdo de sebo antes e após duas e quatro horas de uma única aplicação das formulações F15 e F15C.

	F15	F15C	Controle
Tempo Inicial	61	61	55
	27	36	33
	39	34	16
	38	88	43
	56	135	173
	121	133	80
	80	107	71
	45	45	28
	136	162	83
	25	44	97
	17	27	19
	92	154	105
2horas	132	147	22,5
	71	119	42
	68	12	36
	149	147	51
	150	128	221
	192	135	114
	59	70	85
	135	58	67
	109	152	73
	67	168	88
	159	86	74
	225	169	97
4 horas	43	74	76
	60	93	71
	68	20	14
	99	176	68
	280	345	332
	38	133	43
	40	75	89
	142	13	52
	166	138	68
	99	17	82
	149	102	79
	213	76	58

APÊNDICE R

Tabela 43 – Quantidade de sebo no infundíbulo (%) e (mm²) e contagem de glândulas sebáceas ativas antes e após duas e quatro horas de uma única aplicação das formulações F15 e F15C.

	Quantidade de sebo no infundíbulo (%)			Quantidade de sebo no infundíbulo (mm²)			contagem de glândulas sebáceas ativas		
	F15	**F15C**	**Controle**	**F15**	**F15C**	**Controle**	**F15**	**F15C**	**Controle**
Tempo Inicial	1,1	0,04	1,12	3385,3	979,5	1340,4	173	11	52
	0,01	0,01	0,02	7,94	6,95	67,53	2	2	9
	0,01	0,04	0,01	16,88	117,18	6	7	13	1
	1,95	2,54	4,21	5939,4	7735,8	12832	132	170	133
	1,36	0,39	0,44	4145	1186,7	1350,5	118	57	61
	3,69	2,18	0,75	6844,1	4042,7	1388,3	147	61	45
	1,69	0,21	0,19	5162,9	640,52	574,98	147	49	41
	0,29	0,27	2,12	883,81	816,29	6454,8	30	61	78
	3,52	8,53	7,02	10773	26015	21425	300	362	410
	0,5	2,54	0,67	1538,2	7738,8	2034,8	95	282	134
	0,19	0,32	1,02	689,82	1002,29	4454,3	29	53	67
	14,69	10,21	3,97	44806	31153	12099	609	530	254
2horas	4,38	10,31	3,21	13371	31442	9791,5	488	598	237
	4,65	2,56	0,04	14184	7798,4	124,13	322	200	19
	3,14	2,05	1,29	9585,9	6242,3	3937,4	399	253	234
	6,63	16,56	4,48	20231	50530	13663	433	544	119
	3,2	11,13	1,9	9757,7	33938	5811,3	379	677	177
	39,75	35,76	13,29	121200	66281	24631	248	173	83
	10,82	20,68	0,58	33007	63088	1759,7	539	288	82
	4,82	4,04	2,79	8932,5	7495,5	5173,8	275	252	97
	12,1	7,72	2,46	36924	23549	7505,5	467	432	193
	2,66	8,87	0,69	8102,3	27072	2106,3	299	741	112
	3,94	3,56	2,2	8456,5	7367,5	5200,2	235	255	90
	2,01	2,04	5,01	5478	7018,3	15376	227	218	201
4 horas	5,71	3,35	0,38	17406	10212	1154,9	576	493	58
	5,45	7,22	0,01	16633	22028	20,8	381	332	3
	0,9	2,82	0,2	2790,5	8609,7	602,78	188	393	49
	5,13	2,16	4,09	15643	6593,8	12478	418	137	180
	7,06	7,27	6,25	21540	22171	19064	469	667	398
	37,08	30,41	16,73	113130	92777	51032	259	185	228
	3,05	2,23	0,12	9300,9	6808,3	355,5	334	230	45
	4,44	6,64	3,35	13554	22410	10228	343	425	132
	16,55	8,8	4,46	50482	26847	13594	389	448	247
	3,21	2,89	0,03	9805,4	8811,3	101,29	299	395	9
	4,12	5,18	3,08	12884	20670	11002	300	389	108
	1,59	2,34	6,02	4861	7135,1	18377	298	287	267

APÊNDICE S

Tabela 44 – Conteúdo aquoso do estrato corneo antes, e após 28 dias de aplicação diária da formulação F15C.

	F15C
Tempo inicial	70,8
	41,83
	47,6
	51,2
	30,2
	67,4
	49,4
	70
	54
	39
	29,14
28 dias	67
	57,7
	43,3
	61,83
	32,5
	75
	33
	58,6
	64,4
	42
	54,1

APÊNDICE T

Tabela 45 –Perda transepidérmica de água antes, e após 28 dias de aplicação diária da formulação F15C.

	F15C
Tempo inicial	14,5
	17
	9,1
	13,6
	18,4
	9
	14,1
	9,6
	10,1
	10,7
	6
28 dias	10
	9
	12
	12,1
	15,8
	8,9
	8,7
	4,4
	9
	7,4
	9,3

APÊNDICE U

Tabela 46 – Resultados para os parâmetros aspereza (Ser), descamação (Sesc), maciez (Sesm), número de rugas e rugosidade (Rt) antes, e após 28 dias de aplicação diária da formulação F15C.

	Ser	**Sesc**	**Sesm**	**Sew**	**Rt**
	F15C	**F15C**	**F15C**	**F15C**	**F15C**
Tempo inicial	1,460	0,570	41,150	36,210	62,000
	2,170	0,393	35,787	45,587	61,667
	1,760	0,633	42,580	47,967	76,333
	1,767	0,503	35,683	36,907	53,667
	2,683	0,413	36,003	36,683	58,000
	2,510	0,443	39,300	39,460	57,667
	3,140	0,590	34,235	33,530	75,000
	2,793	0,500	38,697	44,317	62,667
	2,693	0,377	37,443	37,587	57,667
	2,667	0,187	27,817	37,410	45,000
	1,177	0,650	34,437	36,443	57,667
28 dias	3,100	0,843	38,723	39,337	67,667
	3,143	0,333	37,233	42,150	65,333
	3,827	0,513	42,357	37,030	72,333
	2,760	0,337	30,977	36,380	51,333
	2,320	0,243	27,143	38,437	47,333
	1,913	0,493	41,220	35,760	62,000
	2,420	0,290	27,410	38,395	51,000
	1,817	0,293	32,243	44,287	51,000
	3,400	0,383	33,930	38,843	54,000
	2,397	0,413	33,540	37,940	51,000
	1,750	0,850	32,867	35,400	59,667

APÊNDICE V

Tabela 47 – Quantidade de sebo no infundíbulo (%) e (mm²) e contagem de glândulas sebáceas ativas e conteúdo de sebo antes e após 28 dias de aplicação diária da formulação F15C.

	(%)	mm²	Contagem	
	F15C	**F15C**	**F15C**	**F15C**
Tempo inicial	5,87	17898	382	221
	1,93	5889,8	119	133
	2,93	8936,4	116	133
	1,91	5816,3	84	63
	0,19	574,98	35	53
	0,21	640,52	49	107
	2,12	6454,8	78	28
	3,53	10733	300	136
	1,03	3187,2	124	110
	0,51	1553,1	46	20
	0,02	5958	3	19
28 dias	4,15	12645	229	483
	4,25	12967	263	149
	24,71	75390	176	270
	0,94	2862	57	114
	6,85	20.895	217	190
	1,93	5897,7	190	185
	1,85	3435,8	44	93
	6,24	19041	381	225
	0,86	2634	104	114
	0,09	277,06	13	35
	0,01	1390	3	27

APÊNDICE X

Tabela 48 - Quantidade de poros pequenos, grandes e poros totais de diferentes regiões da face (Região malar, Queixo e Nariz) antes e após 28 dias de aplicação diária da formulação.

	Região malar			Queixo			Nariz		
	Poros Pequenos	**Poros grandes**	**Poros totais**	**Poros Pequenos**	**Poros grandes**	**Poros totais**	**Poros Pequenos**	**Poros grandes**	**Poros totais**
Tempo inicial	29,000	13,000	70,800	36,000	6,000	42,610	11,000	4,000	62,000
	12,000	7,000	41,830	18,000	3,000	37,957	8,000	0,000	61,667
	25,000	38,000	47,600	8,000	5,000	44,340	1,000	2,000	76,333
	54,000	20,000	51,200	31,000	3,000	37,450	9,000	3,000	53,667
	17,000	1,000	30,200	18,000	0,000	38,687	35,000	3,000	58,000
	8,000	6,000	67,400	2,000	0,000	41,810	12,000	1,000	57,667
	20,000	6,000	49,400	23,000	13,000	37,375	20,000	8,000	75,000
	32,000	19,000	70,000	27,000	5,000	41,490	23,000	2,000	62,667
	1,000	0,000	54,000	4,000	1,000	40,137	1,000	0,000	57,667
	20,000	1,000	39,000	1,000	1,000	30,483	7,000	0,000	45,000
	20	9	29,140	20	6	35,613	2	1	57,667
28 dias	13,000	7,000	67,000	30,000	5,000	41,823	7,000	2,000	67,667
	23,000	9,000	57,700	21,000	9,000	40,377	11,000	1,000	65,333
	25,000	16,000	43,300	6,000	8,000	46,183	5,000	0,000	72,333
	56,000	15,000	61,830	19,000	1,000	33,737	9,000	0,000	51,333
	23,000	3,000	32,500	9,000	0,000	29,463	30,000	3,000	47,333
	20,000	5,000	75,000	2,000	0,000	43,133	5,000	1,000	62,000
	14,000	9,000	33,000	19,000	11,000	29,830	16,000	8,000	51,000
	24,000	11,000	58,600	27,000	4,000	34,060	15,000	5,000	51,000
	2,000	0,000	64,400	6,000	0,000	37,330	8,000	0,000	54,000
	18,000	1,000	42,000	3,000	0,000	35,937	6,000	0,000	51,000
	18	4	54,100	14	2	34,617	6	1	59,667

APÊNDICE Z

Tabela 49 – Contagem de comedões pelo Vivascope® 1500 e Visioscan VC 98 antes, e após 28 dias de aplicação diária da formulação F15C.

	Comedões Vivascope			Comedões Visioscan		
	Região malar	**Queixo**	**Nariz**	**Região malar**	**Queixo**	**Nariz**
Tempo inicial	11,000	6	25	4	3	23
	37,000	31	30	16	36	28
	51,000	32		14	30	9
	11,000	46	84,000	2	13	25
	2,000	3	51,000	2	0,	21
	22,000	30	29,000	2	5	14
	41,000	34	42,000	19	19	23
	28,000	55	43,000	19	29	31
	2,000	33	40,000	2	9	14
	1,000	6	15,000	0	0	12
	6	21	11	0	3	9
28 dias	11,000	7	28	2	27,000	28,000
	30,000	30	25	17	31,000	21,000
	20,000	51,000		10	18,000	17,000
	13,000	42,000	80,000	7	25,000	27,000
	2,000	3,000	43,000	1	2,000	21,000
	22,000	29,000	26,000	3,0	5,000	13,000
	44,000	46,000	38,000	20,000	18,000	25,000
	36,000	38,000	42,000	24,000	35,000	34,000
	9,000	49,000	23,000	2,000	19	25
	10,000	6,000	6,000	0	0,000	6,000
	3	5	26,000	0	2	7

ANEXOS

ANEXO A - Certificado de aprovação do Comitê de Ética

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Of. CEP/FCFRP nº. 107/2011
kms

Ribeirão Preto, 21 de novembro de 2011.

À
PROFª. DRª. PATRÍCIA M. B. G. MAIA CAMPOS
Pós-graduanda: Daiane Garcia Mercúrio
Departamento de Ciências Farmacêuticas
FCFRP / USP

Prezada Professora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCFRP/USP **aprovou**, em sua 97ª Sessão Ordinária, realizada em 19/10/2011, o projeto de pesquisa intitulado "DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE EFICÁCIA DE FORMULAÇÕES FOTOPROTETORAS PARA A PELE OLEOSA CONTENDO EXTRATOS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE*", apresentado por Vossa Senhoria a este Comitê, Protocolo **CEP/FCFRP nº. 234.**

Informamos que conforme Carta Circular 003/2011 da CONEP (Comissão Nacional de Ética em Pesquisa), o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso e também o pesquisador responsável deverão rubricar todas as páginas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE, apondo sua assinatura na última página do referido Termo. Ainda, de acordo com a Resolução 196/96, item IV.2, letra d, "*o TCLE deverá ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa ou por seu representante legal e uma arquivada pelo pesquisador*".

Em atendimento à Resolução 196/96, lembramos que deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seu resultado, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer alteração, intercorrência ou interrupção do mesmo, tais como eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

Atenciosamente,

p/ Cleni M. B. Machado

PROFª. DRª. MARIA REGINA TORQUETI
Coordenadora do CEP/FCFRP

Avenida do Café S/Nº - Monte Alegre – CEP 14040-903 – Ribeirão Preto – SP
Comitê de Ética em Pesquisa – cep@fcfrp.usp.br
Fone: (16) 3602-4213 ou 3602-4216 – Fax: (16) 3602-4892

ANEXO B

Termo de consentimento (frente)

Pesquisadora responsável: Profa Dra Patrícia M. B. G. Maia Campos (CRF: 11922)
Médico responsável: João Carlos Lopes Simão (CRM: 94214)
Pesquisadora principal: Daiane Garcia Mercurio

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Meu nome é Daiane Garcia Mercurio, sou pesquisadora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto e gostaria de lhe convidar para participar da minha pesquisa como voluntário. Estou desenvolvendo a pesquisa **"Desenvolvimento e avaliação de eficácia de formulações fotoprotetoras para a pele oleosa contendo extrato de *Anacardium occidentale* "**, na qual serão avaliados a estabilidade e os efeitos da aplicação de formulações cosméticas contendo uma associação de filtros solares, acrescidas ou não de extrato de Caju, na pele de 40 voluntários, por métodos não invasivos.

Para tal, após 20 minutos em ambiente com temperatura e umidade relativa do ar controlados, 20-22 °C e 45-55 %, respectivamente, serão realizadas medidas no tempo inicial para a obtenção dos valores basais (medidas na pele sem aplicação do produto cosmético) e após 2 e 4horas (efeitos imediatos) e após 15, 30 e 60 dias de aplicação das formulações, determinando-se a hidratação, a "perda de água pela pele", a textura, a elasticidade, a espessura da epiderme e da derme e a presença de manchas na pele, utilizando-se equipamentos que avaliam a pele de maneira não invasiva, ou seja, sem causar corte, dor ou qualquer tipo de desconforto, pois possuem sondas especiais, que são somente encostadas na pele durante a leitura.

As formulações serão aplicadas na face e na parte do braço onde há poucos pelos, entre o cotovelo e o punho (região interna do antebraço), sendo que em um dos antebraços não será aplicada nenhuma formulação (controle). Você receberá uma embalagem cosmética (bisnaga) contendo a formulação que será estudada. No rótulo da embalagem consta a região de aplicação da formulação (face e/ou qual região do antebraço), bem como a freqüência e períodos de aplicação, ou seja, duas vezes ao dia, no período da manhã e da tarde, todos os dias durante os 60 dias do experimento. Na primeira visita, serão agendadas as próximas visitas (após 15, 30 e 60 dias), e você será orientada quanto à aplicação da quantidade de formulação correspondente a 50 mg nas regiões objeto de estudo.

O principal efeito esperado com o uso destas formulações é o aumento da hidratação, melhora da textura e aparência da pele, controle da oleosidade e a proteção contra a radiação solar. Porém, as formulações poderão eventualmente causar vermelhidão e/ou coceira, o que pode ocorrer com o uso de qualquer formulação cosmética, mas para a sua segurança haverá acompanhamento da pesquisa pela pesquisadora e pelo médico, responsáveis pela mesma, sendo que, caso você venha a apresentar o menor sinal de alguma reação indesejável, você será imediatamente excluída da pesquisa e serão tomadas todas as providências necessárias para a recuperação do estado normal da sua pele e para que não fiquem seqüelas, estando nós pesquisadores obrigados a arcar com as despesas necessárias para isto.

Se você está de acordo em participar da pesquisa, posso garantir-lhe que as informações fornecidas serão confidenciais e somente serão utilizadas neste trabalho, e se houver interesse de sua parte, os resultados lhes serão fornecidos.

Se tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, poderá entrar em contato comigo por meio dos telefones: (16) 3234-7594 ou (16) 91192742 ou no endereço: Rua Floriano Peixoto, nº 870, ap.124 - Centro - Ribeirão Preto-SP.

Profa. Dra. Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos
PESQUISADORA RESPONSÁVEL

Daiane Garcia Mercurio
PESQUISADORA PRINCIPAL

Termo de consentimento (verso)

EU:_____,
R.G. nº:_____, abaixo assinado, acredito ter sido suficientemente esclarecido(a) sobre a pesquisa "Desenvolvimento e avaliação de eficácia de formulações fotoprotetoras para a pele oleosa contendo extrato de *Anacardium occidentale*" e tendo recebido as informações contidas neste termo de consentimento, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar como voluntário da pesquisa citada.

1 – A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa e o tratamento a que serei submetido;

2 – A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento, e deixar de participar do estudo sem que isso me traga alguma penalidade ou prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;

3 – A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com a minha privacidade;

4 – O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando;

5 – A disponibilidade de tratamento médico e a indenização que legalmente teria direito, por parte da Instituição à Saúde, em caso de danos que justifiquem, diretamente causados pela pesquisa;

6 – Que se existirem gastos adicionais, o valor gasto será reembolsado pelo orçamento da pesquisa.

7 – Que se ocorrerem reações adversas na pele (como alergia, irritações e outras), decorrente da aplicação local das formulações, os voluntários deverão interromper imediatamente o uso destas.

8- Que receberei uma cópia deste termo de compromisso.

Tenho ciência do exposto acima e desejo colaborar com a pesquisa.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____

_____

Assinatura do voluntário

Anexo C

mapric

Qualidade Total mapric Satisfação do Cliente

FICHA DE INFORMAÇÃO DE SEGURANÇA DE PRODUTO

Produto: Extrato Glicólico de Caju HG **Revisão: 00** **Folha: 1/3**

1- IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO E DA EMPRESA

Nome do produto: Extrato Glicólico de Caju HG

Fabricado por: MAPRIC PRODUTOS FARMACOCOSMÉTICOS LTDA
Endereço: AV. Dr Gentil de Moura, 194 – Ipiranga – São Paulo – SP – Brasil
Responsável Técnico: Luiz Gustavo Martins Matheus – Farmacêutico - CRF-SP : 14 851
CNPJ: 54.470.604/ 0001-20 IE : 111.252.814.117
Tel/fax: (11) 5061-5282 / (11) 5061-9223 / (11) 5061-9822
Website: www.mapric.com.br
e-mail: mapric@mapric.com.br
Telefone para emergências: (11) 5061-5282

2- COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÕES QUANTO AOS COMPONENTES

Nº	COMPONENTE	Nº CAS	Nº EINECS
1	Caju (*Anacardium occidentalis L.*)		
2	Propilenoglicol	57-55-6	200-338-0
3	Álcool Etílico	64-17-5	200-578-6
4	Água	7732-18-5	231-791-2
5	5-Cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona /	26172-55-4	247-500-7
	2-Metil-4-isotiazolin-3-ona	2682-20-4	220-239-6
6	Metilparabeno	99-76-3	202-785-7

Componentes perigosos: nenhum na concentração utilizada

3- IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS

Olhos: Pode causar desconforto e leve irritação.
Contato com a pele: Não relevante.
Absorção pela pele: Não relevante.
Ingestão: Não Determinada.
Inalação: Não relevante.

4- MEDIDAS DE PRIMEIROS SOCORROS

Olhos: Lavar os olhos com água corrente. Em caso de irritação procurar auxílio médico.
Pele: Não oferece riscos.
Ingestão: Não se esperam efeitos adversos por esta via de exposição resultantes da ingestão acidental durante o manuseio industrial correto. Caso o paciente apresente algum efeito, consultar um médico.
Inalação: Remova para um ambiente aberto se o paciente apresentar algum efeito.

mapric

Qualidade Total mapric Satisfação do Cliente

Produto: Extrato Glicólico de Caju HG	Revisão: 00	Folha: 2/3

5- MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

Meios de Extinção apropriado: Água na forma de neblina, extintor de espuma, CO_2 ou pó químico.
Riscos de fogo e explosão: Evitar a inalação da fumaça.
Equipamento de combate ao fogo: Usar roupa de proteção adequada, luvas e aparelho de respiração autônoma.

6 – MEDIDAS DE CONTROLE PARA DERRAMAMENTO OU VAZAMENTO

Precauções pessoais: Utilizar EPI´s adequados.
Precauções ao meio ambiente: Cobrir com material absorvente.
Métodos para limpeza: Lavar com água em abundância. Desfazer-se do material de acordo com as regulamentações locais.

7 – MANUSEIO E ARMAZENAMENTO

MANUSEIO:
Prevenção da exposição do trabalhador: Utilizar EPI´S adequados, incluindo óculos de segurança.
Orientação para manuseio seguro: Mantenha os recipientes fechados quando não estiverem em uso.
ARMAZENAMENTO:
Acondicionar em recipiente hermético, ao abrigo de calor e de luz solar direta.
Deve haver ventilação adequada nos locais de trabalho e de armazenagem.

8 – LIMITES DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

Medidas de controle de engenharia.
Limite de exposição ocupacional: Não aplicável.
Ventilar adequadamente os locais de armazenagem e de manipulação do produto.
Proteção individual: De acordo com as boas práticas de fabricação, manipular o produto utilizando os EPI´s apropriados.

9- PROPRIEDADES FISICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS

Aspecto: Líquido límpido
Cor: Incolor a Levemente amarelado *
Odor: Característico
Densidade: 1,000 a 1,100
pH (solução a 10%): 3,50 a 5,50
Solubilidade: Solúvel em etanol, propilenoglicol, glicerina e sorbitol. Pode sofrer turvação em água.
Contagem Total bactérias: Max. 100 UFC/g
Bolores e Leveduras: Max. 100 UFC/g
Patogênicos: Ausente

* Obs.: Poderá haver alteração de cor por modificação dos componentes coloridos da planta ou de acordo com o lote/safra utilizada.

Av. Gentil de Moura, 194 CEP 04278 080 Ipiranga São Paulo SP Tel/Fax 55 (11) 5061.5282
mapric@mapric.com.br www.mapric.com.br

mapric

Qualidade Total mapric Satisfação do Cliente

Produto: Extrato Glicólico de Caju HG	Revisão: 00	Folha: 3/3

10- ESTABILIDADE E REATIVIDADE

Instabilidade: Não expor ao calor ou luz solar direta.
Estabilidade: Estável em condições normais de armazenamento.
Incompatibilidade: Não Aplicável.
Produtos de decomposição perigosos: Não Aplicável.
Reações de polimerização perigosas: Não Aplicável.

11- INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS

DL 50 (Oral): Não determinada.
Irritação cutânea: Não irritante.
Sensibilização: Não sensibilizante.
Fotoalergia: Não fotoalergênico.
Fototoxicidade: Não fototóxico.
Irritação ocular: Não determinada.

12- INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS

Não há dados ecológicos disponíveis.

13-CONSIDERAÇÕES SOBRE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO

Produto: Dispor de acordo com as regulamentações locais.
Embalagem: Deverá ser limpa, e destinada adequadamente de acordo com as regulamentações locais.

14- INFORMAÇÕES SOBRE TRANSPORTE

Produto não classificado como perigoso.

15- DADOS LEGAIS

Limite de exposição ocupacional: Não aplicável.
A Ficha de Segurança está disponível para usuários profissionais.

16- OUTROS DADOS

Prazo de validade: 36 meses a partir da data de fabricação.
Produto obtido por maceração da planta por 12 horas no liquido extrator, seguido de filtração. Após fabricação é adicionado conservante.
Produto de origem Nacional.

As informações aqui contidas são meramente orientações e são dadas de boa fé, sem que incorra em responsabilidade, expressa ou implícita. Caso haja necessidade de esclarecimento ou informações adicionais, consulte o fabricante.

Revisão: 00	Data: 11/08/2007

Av. Gentil de Moura, 194 CEP 04278 080 Ipiranga São Paulo SP Tel/Fax 55 (11) 5061.5282
mapric@mapric.com.br www.mapric.com.br