UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento e eficácia clínica de dermocosméticos para a pele acneica
contendo vitamina B3 e derivados de vitamina B6 e zinco**

Jirrah Pedro de Andrade

Ribeirão Preto
2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento e eficácia clínica de dermocosméticos para a pele acneica
contendo vitamina B3 e derivados de vitamina B6 e zinco**

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

Orientado(a): Jirrah Pedro de Andrade

Orientador(a): Prof^a Dra. Patrícia M. B. G. Maia
Campos

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 03/12/2013. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2013

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.

ANDRADE, Jirrah Pedro de

Desenvolvimento e eficácia clínica de dermocosméticos para a pele acneica contendo vitamina B3 e derivados de vitamina B6 e zinco. Ribeirão Preto, 2013.

142 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 Gonçalves Berardo.

1. Acne. 2. Eficácia clínica. 3. Vitamina B3.
4. Derivado de vitamina B6. 5. PCA de Zinco

FOLHA DE APROVAÇÃO

Jirrah Pedro de Andrade

Desenvolvimento e eficácia clínica de dermocosméticos para a pele acneica contendo vitamina B3 e derivados de vitamina B6 e zinco

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.

Orientador(a): Prof^a Dra. Patrícia M. B. G. Maia Campos

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ivan e Marilourdes,
e minha irmã Jalousie, pelo amor e incentivo

À Professora Doutora Rosa Domingues Ribeiro

AGRADECIMENTOS

Ao Flávio Henrique Sant'ana Costa pelo companheirismo, empenho e enorme ajuda.

À Mariana Barbieri Alvarez Demets pela amizade e grande ajuda em todos os momentos.

À Daiane Garcia Mercúrio e Tais Aleriana Lucon Wagemaker pela amizade e grande colaboração.

Às pós-graduandas Lidiane Advíncula e Raquel Teixeira, pelo grande companheirismo.

A todos do Laboratório de Tecnologia de Cosméticos, que contribuíram com meu trabalho.

Ao Dr. João Carlos Simão, pela colaboração.

Ao Professor Luís Alexandre Pedro de Freitas, ao Rodrigo Molina e à Áurea Lanchote.

À Professora Maria José Vieira Fonseca.

A todas as voluntárias que participaram desse estudo, pois sem elas esse trabalho não seria possível.

Às empresas do segmento cosmético que gentilmente forneceram matérias-primas utilizadas neste trabalho.

À Idalina, Joyce e toda a equipe da EVIC.

À Universidade de Franca e a todos os professores que contribuíram com a minha formação.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto pela oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de mestrado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A todos que de certa forma contribuíram com meu trabalho.

À minha orientadora Professora Doutora Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos pela oportunidade da realização deste mestrado.

RESUMO

ANDRADE, J. P. **Desenvolvimento e eficácia clínica de dermocosméticos para a pele acneica contendo vitamina B3 e derivados de vitamina B6 e zinco.** 2013. 142f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

A acne é uma doença de pele com alta prevalência e seu tratamento é importante para evitar lesões cutâneas permanentes ou o agravamento de transtornos psicológicos provenientes do abalo à autoestima. Dessa forma, o desenvolvimento de formulações dermocosméticas eficazes que possam melhorar as condições desse tipo de pele é de grande valia. Dentre os ativos com potenciais benefícios para o controle de alguns dos principais fatores causadores da acne, estão a vitamina B3, um derivado de vitamina B6 e o PCA zinco. Assim o objetivo deste estudo foi o desenvolvimento de formulações dermocosméticas para a pele acnéica contendo vitamina B3, derivado lipossolúvel de vitamina B6 e PCA zinco bem como a avaliação da estabilidade e eficácia clínica dessas formulações. Para tal, foram desenvolvidas diferentes formulações, as quais, em um primeiro momento, foram avaliadas quanto à estabilidade frente à adição do ingrediente ativo *Zinc PCA*. Após esta etapa, os demais ingredientes ativos foram adicionados e as formulações foram submetidas a testes preliminares de estabilidade e ao estudo da estabilidade física por determinação do comportamento reológico. A formulação mais estável foi avaliada quanto à compatibilidade cutânea e também em relação à comedogenicidade do veículo. A formulação composta pelos ingredientes ativos foi avaliada, ainda, quanto as suas características sensoriais e eficácia clínica. Os estudos de eficácia foram realizados por meio de métodos objetivos e subjetivos, após seis semanas do uso da formulação. Os métodos objetivos consistiram no uso de metodologias *in vivo*, não invasivas (métodos biofísicos e de imagem), sendo avaliados parâmetros relacionados à hidratação, função barreira, conteúdo lipídico, pH cutâneo, contagem de porfirinas, de microcomedões e de lesões inflamatórias. Em relação aos métodos subjetivos, foi realizada a percepção da eficácia por meio de um questionário para a comparação da pele antes e após o tratamento. Os resultados mostraram que, de todas as formulações desenvolvidas, apenas uma mostrou-se estável frente aos testes de estabilidade realizados. A formulação (veículo e adicionada de ingredientes ativos) apresentou compatibilidade cutânea considerada como “muito boa”, de acordo com o teste realizado, e o veículo sem potencial comedogênico. Na avaliação sensorial as frequências obtidas para os parâmetros considerados como ruins foram baixas, indicando que o sensorial da formulação mostrou-se adequado para as finalidades propostas. No estudo de eficácia clínica, a formulação não alterou a hidratação e a função barreira da pele e mostrou-se eficaz na redução da contagem de porfirinas e das lesões inflamatórias ($p < 0,05$). A avaliação clínica por métodos subjetivos mostrou a eficácia da formulação quanto à melhora da acne inflamatória, oleosidade da pele, hidratação e maciez. Por fim, os resultados obtidos mostraram que a formulação desenvolvida é eficaz e compatível com a pele, bem como a importância da pesquisa e desenvolvimento para a obtenção de formulações estáveis, seguras, eficazes e com sensorial adequado.

Palavras-chave: Acne; Eficácia clínica; Vitamina B3; Derivado de vitamina B6; PCA de zinco.

ABSTRACT

ANDRADE, J. P. **Development and clinical efficacy of cosmetics for acneic skin with vitamin B3 and derivatives of vitamin B6 and zinc.** 2013. 142f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

Acne is a skin disease with high prevalence and its treatment is important to prevent permanent skin lesions or the aggravation of psychological disorders due to self-esteem shaken. This way, the development of effective dermocosmetic formulations, that can improve the conditions of this skin type, is very important. Vitamin B3, a vitamin B6 derivative and zinc PCA are among the active ingredients which present potential benefits in the controlling of some pathogenic factors of acne. Thus, the aim of this research was to develop cosmetic formulations for acneic skin containing vitamin B3, vitamin B6 lipophilic derivative and zinc PCA, as well as the evaluation of stability and clinical efficacy. For this purpose, were developed different formulations which, at first, were evaluated in terms of stability face to zinc PCA addition. After this, the others active ingredients were added and the formulations were submitted to preliminary tests of stability and physical stability studies by rheological behavior determination. The most stable formulation was subject to skin compatibility evaluation and vehicle comedogenicity. The formulation with the active ingredients was also evaluated regarding their sensorial characteristics and clinical efficacy. Efficacy studies were performed by means of objective and subjective methods, after a six-week-period of use of the formulation. The objective methods consisted in non-invasive *in vivo* methodologies (biophysical techniques and image analysis) where were evaluated hydration, barrier function, lipid content, skin pH and the counting of porphyrins, microcomedones and inflammatories lesions. In relation to subjective methods, was performed the efficacy perception using a questionnaire in order to compare the skin before and after the treatment. The results showed that among the formulations developed, only one kept stable after the stability tests. The formulations were considered as "very good" on skin compatibility test and showed no comedogenic potential. In sensorial evaluation, frequencies obtained for the parameters considered bad were low, which indicate the sensorial of the formulation was adequate for the purposes. In clinical efficacy study, the formulation under study did not alter the parameters related to hydration and skin barrier function and was effective in reducing the counting of porphyrins and inflammatories lesions ($p < 0,05$). Clinical evaluation by subjective methods showed the formulation effectiveness regarding the improvement of inflammatory acne, skin oiliness, hydration and softness. Finally, the results obtained showed the formulation developed is effective and compatible with the skin and, besides the importance of research and development for obtaining stable, safe and effective formulations with suitable sensorial.

Keywords: Acne; Clinical efficacy; Vitamin B3; Vitamin B6 derivative; Zinc PCA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Regiões da face em que foi realizado o estudo de eficácia.....	40
Figura 2. Aderência dos dados experimentais aos modelos matemáticos de Ostwald ($R^2=0,76565$; RQMR=156,23507; $\chi^2=9,1903$), Cross ($R^2=0,96778$; RQMR=18,95041; $\chi^2=1,26336$) e Cross com a inclusão do termo <i>yield stress</i> ($R^2=0,99854$; RQMR=0,80028; $\chi^2=0,05716$).	49
Figura 3. Ajuste linear entre a tensão e a taxa de cisalhamento dos dois primeiros valores experimentais em concordância com o ajuste da equação de Cross com a inclusão do <i>yield stress</i>	49
Figura 4. Reogramas da F11a (formulação veículo) armazenada no (A) ambiente; (B) 37°C; (C) 45°C e (D) 4°C, no período de 28 dias (T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28}).	50
Figura 5. Reogramas da F11b (formulação adicionada dos ingredientes ativos) armazenada no (A) ambiente; (B) 37°C; (C) 45°C e (D) 4°C, no período de 28 dias (T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28}).	51
Figura 6. Viscosidade inicial (η_0) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.	54
Figura 7. Viscosidade no infinito (η_∞) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.	57
Figura 8. Tempo de relaxação (K_{CR}) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.	60
Figura 9. Expoente adimensional (n) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.	63
Figura 10. <i>Yield stress</i> (σ_0) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.	67
Figura 11. Frequência relativa dos parâmetros relacionados às “características sensoriais”.	68
Figura 12. Frequência relativa dos parâmetros relacionados aos “efeitos na pele”.	69
Figura 13. Resultados da hidratação – Conteúdo aquoso do estrato córneo. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: fronte média, RM: região malar e QX: queixo). Nível de significância $p<0,05$	70
Figura 14. Resultados da barreira cutânea – Perda de água transepidérmica. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: fronte média, RM: região malar e QX: queixo). Nível de significância $p<0,05$	71
Figura 15. Resultados da quantidade de sebo. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: fronte média, RM: região malar e QX: queixo). Nível de significância $p<0,05$	72
Figura 16. Resultados do pH da pele. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: fronte média, RM: região malar e QX: queixo). Nível de significância $p<0,05$	73

Figura 17. Resultados da contagem de porfirinas. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: fronte média, RM: região malar e QX: queixo). *Significativamente menor em relação aos valores basais ($p < 0,05$).74

Figura 18. Quantidade de porfirinas, representada pelos pontos fluorescentes de coloração vermelho-laranja antes (T_0) e após seis semanas (T_{42}) o uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: fronte média, RM: região malar e QX: queixo).75

Figura 19. Resultados da contagem de microcomedões. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) para cada voluntário (V). RM: região malar.76

Figura 20. Resultados da contagem das lesões inflamatórias. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) na face de cada voluntário (V). As setas indicam os voluntários que apresentaram a melhor eficácia clínica; ♦ Voluntários que apresentaram aumento na contagem das lesões inflamatórias; *Não foram considerados os voluntários que apresentaram aumento na contagem de lesões.77

Figura 21. Fotografia de alta resolução da face (A) antes e (B) depois do uso da formulação. As setas indicam as lesões inflamatórias.77

Figura 22. Frequências absolutas do parâmetro “observou”: cravos brancos, cravos pretos, espinhas e espinhas internas (*Número de voluntários que observaram a redução nos parâmetros).....78

Figura 23. Frequências absolutas do parâmetro “sentiu” a pele: mais macia, mais hidratada, mais lisa/homogênea, menos oleosa.78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (Xanthan gum).	17
Tabela 2. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer).	17
Tabela 3. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (Hydroxypropyl Starch Phosphate).	18
Tabela 4. Formulação desenvolvida na etapa 2 – escolha do sistema emulsionante (Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60).	18
Tabela 5. Formulação desenvolvida na etapa 2 – escolha do sistema emulsionante (Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside).	19
Tabela 6. Formulação desenvolvida na etapa 2 – escolha do sistema emulsionante (Tribehenin PEG-20 Esters).	19
Tabela 7. Formulação desenvolvida na etapa 2 – escolha do sistema emulsionante (Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate).	19
Tabela 8. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Xanthan gum + Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside).	20
Tabela 9. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer + Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside).	21
Tabela 10. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxypropyl Starch Phosphate + Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside).	22
Tabela 11. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer + Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60).	23
Tabela 12. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxypropyl Starch Phosphate + Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60).	24
Tabela 13. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Xanthan Gum + Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate).	25
Tabela 14. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxypropyl Starch Phosphate + Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate).	26

Tabela 15. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (Hydroxyethylcellulose).....	27
Tabela 16. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (Xanthan gum Keltrol).	27
Tabela 17. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxyethylcellulose + Tribehenin PEG-20 Esters).	28
Tabela 18. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxypropyl Starch Phosphate + Tribehenin PEG-20 Esters).	29
Tabela 19. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Xanthan Gum + Tribehenin PEG-20 Esters).	30
Tabela 20. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Xanthan Gum Keltrol + Tribehenin PEG-20 Esters).....	31
Tabela 21. Valores de pH das formulações desenvolvidas após o preparo.	47
Tabela 22. Valores de pH das formulações desenvolvidas após ajuste (solução de NaOH a 10%).....	47
Tabela 23. Média (com desvio padrão) dos valores de pH da formulação F11a, 24 horas e após 28 dias de estocagem, nas temperaturas ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C, e coeficiente de variação entre esse período.	48
Tabela 24. Média (com desvio padrão) dos valores de pH da formulação F11b, 24 horas e após 28 dias de estocagem, nas temperaturas ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C, e coeficiente de variação entre esse período.	48
Tabela 25. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> da viscosidade inicial (η_0) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$	52
Tabela 26. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> da viscosidade inicial (η_0) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$	53
Tabela 27. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> da viscosidade no infinito (η_∞) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$	55
Tabela 28. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> da viscosidade no infinito (η_∞) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$	56
Tabela 29. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> do tempo de relaxação (K_{CR}) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$	58
Tabela 30. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> do tempo de relaxação (K_{CR}) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$	59

Tabela 31. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> do expoente adimensional (n) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.	61
Tabela 32. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> do expoente adimensional (n) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.	62
Tabela 33. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> do <i>yield stress</i> (σ_0) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.	64
Tabela 34. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> do <i>yield stress</i> (σ_0) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.	65
Tabela 35. Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> do <i>yield stress</i> (σ_0) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb) e 45°C. Nível de significância $p < 0,05$.	66
Tabela 36. Frequências absoluta e relativa das “características sensoriais” da formulação F11b.	68
Tabela 37. Frequências absoluta e relativa dos “efeitos na pele” da formulação F11b.	68
Tabela 38. Teste de <i>Wilcoxon</i> do conteúdo aquoso do estrato córneo. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da frente média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.	70
Tabela 39. Teste de <i>Wilcoxon</i> da perda de água transepidérmica. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da frente média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.	71
Tabela 40. Teste de <i>Wilcoxon</i> da quantidade de sebo. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da frente média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.	72
Tabela 41. Teste de <i>Wilcoxon</i> do pH da pele. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da frente média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.	73
Tabela 42. Teste de <i>Wilcoxon</i> da contagem de porfirinas. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da frente média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.	74
Tabela 43. Teste de <i>Wilcoxon</i> da contagem de microcomedões. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Contagem da região malar (RM). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.	75
Tabela 44. Teste de <i>Wilcoxon</i> da contagem de lesões acneicas inflamatórias. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Contagem de toda a face. Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.	76

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Acne	4
2.2. O zinco, a vitamina B3 e a vitamina B6 como ingredientes ativos anti-acne	6
2.3. Uso de produtos cosméticos nos cuidados da pele acnéica.....	7
2.4. Estabilidade de formulações dermocosméticas.....	8
2.5. Avaliação sensorial	9
2.6. Avaliação da eficácia de produtos cosméticos	9
3. OBJETIVO.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1. Matérias-primas.....	15
4.2. Equipamentos e acessórios.....	16
4.3. Desenvolvimento das formulações.....	16
4.4. Centrifugação	32
4.5. Determinação do pH.....	32
4.6. Testes preliminares de estabilidade	32
4.6.1. Análise do aspecto macroscópico e das características organolépticas	32
4.6.2. Valor de pH.....	33
4.7. Determinação do comportamento reológico	33
4.7.1. Estudo de estabilidade física	33
4.7.2. Análise Estatística	35
5. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	36
5.1. Avaliação primária da compatibilidade cutânea	37

5.2. Avaliação da comedogenicidade	37
5.3. Avaliação sensorial	37
5.3.1. Triagem dos voluntários	37
5.3.2. Aplicação do questionário	38
5.3.3. Análise dos dados	38
5.4. Avaliação da eficácia clínica da formulação objeto de estudo	38
5.4.1. Triagem dos voluntários	38
5.4.2. Avaliação da eficácia por métodos de biofísica e análise de imagem	39
5.4.2.1. Aplicação da formulação	39
5.4.2.2. Regiões de estudo	40
5.4.2.3. Metodologias empregadas	40
5.4.2.3.1. Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo	40
5.4.2.3.2. Determinação da perda de água transepidérmica	41
5.4.2.3.3. Determinação da quantidade de sebo	41
5.4.2.3.4. Determinação do pH cutâneo	42
5.4.2.3.5. Contagem de porfirinas	42
5.4.2.3.6. Contagem de microcomedões	42
5.4.2.3.7. Contagem das lesões acnéicas inflamatórias por imagens de alta resolução	43
5.4.3. Avaliação da eficácia pela percepção	44
5.4.4. Análise estatística	44
6. RESULTADOS	45
6.1. Desenvolvimento das formulações	46
6.2. Centrifugação	47
6.3. Determinação do pH	47
6.4. Testes preliminares de estabilidade	47
6.4.1. Análise do aspecto macroscópico e das características organolépticas	47
6.4.2. Valor de pH	48
6.5 Determinação do comportamento reológico	48
6.6. Avaliação primária da compatibilidade cutânea	67
6.7. Avaliação da comedogenicidade	67
6.8. Avaliação sensorial	68
6.9. Avaliação da eficácia clínica da formulação objeto de estudo	69
6.9.1. Avaliação da eficácia por métodos de biofísica e análise de imagem	69
6.9.2. Avaliação da eficácia pela percepção	78
7. DISCUSSÃO	80

8. CONCLUSÃO.....	93
9. REFERÊNCIAS.....	95
APÊNDICES.....	104
ANEXOS.....	114

1. Introdução

As inovações e avanços tecnológicos na área da saúde tem levado a forte interação entre as áreas de alimentos, medicamentos e cosméticos, visando à obtenção de produtos multifuncionais, efetivos e seguros bem como o desenvolvimento de métodos de avaliação que possibilitem a comprovação dos efeitos propostos para tais produtos.

Os “cosmecêuticos” e “nutracêuticos” que representam uma categoria intermediária de produtos entre os medicamentos e cosméticos e alimentos e medicamentos, respectivamente, vem sendo uma forte tendência em produtos para diferentes finalidades. O termo cosmecêutico vem sendo aplicado na área médica se referindo aos cosméticos funcionais ou os chamados dermocosméticos.

Apesar da forte tendência na busca de produtos para prevenir, retardar e tratar o envelhecimento com o uso dos chamados “cosmecêuticos” há uma grande demanda por produtos que possam atuar na melhoria de diferentes alterações cutâneas nem sempre decorrentes do envelhecimento, como é o caso da pele acneica.

Considerando a importância dos cuidados específicos que a pele acneica necessita, o desenvolvimento de formulações que melhorem as condições deste tipo de pele tem sido um desafio, principalmente para a obtenção de produtos estáveis, seguros e eficazes.

A acne é a doença de pele com maior prevalência e, embora muitos tratamentos tenham sido utilizados, os mesmos podem ser agressivos ou trazerem efeitos inconvenientes, sendo importante outras propostas de ingredientes ativos para seu tratamento e que tragam mais conforto para o paciente.

Diante do exposto, os ingredientes ativos que possuem potencial para serem utilizados em formulações para este tipo de pele são a vitamina B3, um derivado lipossolúvel da vitamina B6 e o PCA de zinco, os quais podem atuar na melhoria da hidratação, na proteção da barreira da pele, na redução da quantidade de sebo e na redução da inflamação.

Além disso, devem ser levados em consideração os ingredientes que irão compor veículo da formulação, uma vez que a utilização de formulações oclusivas e com sensorial inadequado pode interferir no desempenho e segurança do produto e, ainda, dificultar a adesão ao tratamento.

Assim, o desenvolvimento de uma formulação para a pele acneica que contemple diversos mecanismos de ação, para que sejam capazes de atuar nos principais fatores patogênicos da acne, que não prejudiquem ou até mesmo melhorem as condições gerais da pele, sendo uma alternativa a tratamentos mais agressivos e que levam a efeitos indesejados, é de fundamental importância, bem como a sua comprovação de eficácia clínica.

2. Revisão de Literatura

2.1. Acne

A acne é a doença de pele mais comum, a qual geralmente inicia-se na adolescência e em alguns casos pode persistir na vida adulta (DEGITZ et al., 2007; BARRATT et al., 2009).

Trata-se de uma doença crônica da unidade pilossebácea, a qual apresenta como características clínicas seborreia, lesões não inflamatórias, lesões inflamatórias e cicatrizes (WILLIAMS et al., 2012) e sua morfologia inclui os tipos comedonal e inflamatória (KAMANGAR; SHINKAI, 2012).

A acne comedonal é obstrutiva e clinicamente não inflamatória, é caracterizada pela presença de lesões de pele de cor branca ou lesões marrons a pretas, denominados comedões fechados e comedões abertos, respectivamente. Já na acne inflamatória, encontra-se a presença de pápulas, caracterizadas por lesões avermelhadas; pústulas, as quais se apresentam como lesões superficiais com a presença pus visível no centro da lesão; nódulos, em que estão presente lesões sólidas e elevadas e cistos caracterizado por lesões ulceradas (KRAKOWSKI et al., 2008). A acne inflamatória pode, ainda, ser subdividida em papulopustular, nodular, conglobata ou nodulocística, a qual inclui a acne fulminante como sua forma grave (COLLIER et al., 2009).

As lesões acneicas resultam de quatro fatores patogênicos primários que interagem de maneira complexa para produzir as lesões: (1) alteração no processo de queratinização, (2) produção de sebo pelas glândulas sebáceas, (3) colonização folicular por *Propionibacterium acnes* e (4) liberação de mediadores inflamatórios na pele (THIBOUTOT et al., 2009).

Um dos eventos iniciais mais importantes no desenvolvimento das lesões de acne é a hiperqueratinização no infundíbulo folicular e ductos sebáceos, resultando em microcomedões (KUROKAWA et al., 2009).

A patogênese desse processo ainda não é clara, entretanto, há diversos relatos que propõe seu mecanismo de desenvolvimento como a participação da citocina interleucina 1, a expressão aumentada de filagrina, a hiperproliferação das células do infundíbulo, o aumento da diidrotestosterona, a deficiência relativa de ácido linoleico e a presença de peróxidos no sebo e recentemente o *Propionibacterium acnes* tem apresentado participação nesse processo (KUROKAWA et al., 2009).

No entanto, estudos recentes sugerem que uma inflamação subclínica pode preceder ou ocorrer simultaneamente com a formação do microcomedão. Há evidências que cascatas inflamatórias específicas ocorrem durante a formação subclínica e o surgimento de lesões visíveis de acne, no período da progressão das lesões e durante a resolução, incluindo cicatrizes (STEIN, 2013).

A produção aumentada de sebo é uma característica de indivíduos que tem acne, e as taxas de secreção correlacionam-se bem com a gravidade das manifestações clínicas, entretanto a seborreia não é uma condição suficiente para o desenvolvimento da patologia (KUROKAWA et al., 2009; PICARDO et al., 2009).

Uma característica do sebo em pacientes com acne é a presença de lipoperóxidos, principalmente devido à peroxidação de esqualeno e uma diminuição do nível de vitamina E, o principal antioxidante do sebo. Neste contexto, os lipoperóxidos e ácidos graxos monoinsaturados são capazes de induzir alterações na proliferação e diferenciação de queratinócitos, sendo que os peróxidos são capazes também de induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias (KUROKAWA et al., 2009).

A participação do *Propionibacterium acnes* na patogênese da acne ainda é controverso. Estudos sugerem que os folículos sebáceos contendo um microcomedão proporcionam um ambiente anaeróbico e rico em lipídios para o crescimento da bactéria *P. acnes*, sendo que a lipogênese é diretamente aumentada pela colonização desta bactéria. Cepas únicas, com diferentes perfis de resistência bacteriana colonizam diferentes unidades pilossebáceas e induzem à inflamação, via receptores, em queratinócitos e macrófagos. De acordo com resultados de um estudo *in vitro*, este microorganismo também pode estar relacionado com a formação de um biofilme dentro do folículo (WILLIAMS et al., 2012).

Um estudo recente realizado por Jahns et al. (2012) mostrou que o *Propionibacterium acnes* apresenta uma maior prevalência na colonização folicular em pacientes com acne, tanto em termos de folículos contendo *P. acnes* quanto em maior quantidade de biofilmes.

O tratamento da acne justifica-se pela possibilidade de evitar tanto lesões cutâneas permanentes quanto o aparecimento ou agravamento de transtornos psicológicos provenientes do abalo à autoestima ocasionado pelas lesões (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Muitos produtos são utilizados para seu tratamento, incluindo produtos tópicos, sistêmicos ou muitas vezes a associação de ambas as terapias visando o aumento da efetividade do tratamento (AYER; BURROWS, 2006; KATSAMBAS; DESSINIOTI, 2008).

Os produtos mais utilizados no tratamento oral da acne são antibióticos, isotretinoína sistêmica e tratamentos hormonais e o tratamento tópico inclui retinóides, peróxido de benzoíla, ácido azelaico alfa e beta hidroxíácidos, ácido salicílico e antibióticos (KATSAMBAS et al., 2004; AYER; BURROWS, 2006; KATSAMBAS; DESSINIOTI, 2008; GRABER; THIBOUTOT, 2010).

Nos últimos 15 anos, foram introduzidos muitos produtos de cuidados da pele nos quais são atribuídos benefícios diretos sobre as lesões acnéicas. Estes cosméticos “ativos”

podem atuar no excesso da produção de sebo, na inflamação, em comedões, na desregulação dos queratinócitos, como antibacterianos e em outros fatores envolvidos na acne (GUERRERO, 2010).

2.2. O zinco, a vitamina B3 e a vitamina B6 como ingredientes ativos anti-acne

A primeira relação entre a deficiência de zinco e a acne foi feita por Michaelsson e Fitzherbert no início dos anos 70, os quais realizaram a suplementação de zinco em pacientes que apresentavam acne e deficiência desse mineral. Posteriormente, foi encontrado que os níveis séricos de zinco, em pacientes que sofriam de acne vulgar inflamatória grave, eram significativamente mais baixos que de indivíduos que não possuem tal doença (BAE et al., 2010).

O papel do zinco no tratamento da acne ainda não é bem compreendido, no entanto, de acordo com trabalhos relatados na literatura, ele está envolvido em diferentes mecanismos, tais como a redução local na pele de *Propionibacterium acnes* e no nível de ácidos graxos livres, apresentando como um possível mecanismo a inibição da enzima lipase do *P. acnes*, modulador da inflamação na pele e adicionalmente na supressão da produção de sebo, possivelmente por atividade anti-androgênica (BAE et al., 2010).

A niacinamida ou nicotinamida é uma vitamina hidrossolúvel, a qual tem sido utilizada em diversas áreas da medicina como um fármaco sistêmico (OTTE et al., 2006).

Na pele, foi encontrado que ela possui um efeito estabilizador sobre a função da barreira epidérmica, reduzindo a perda de água transepidérmica e melhorando o teor de umidade da camada córnea, além de um efeito estimulante sobre a síntese de ceramidas (TANNO, 2004). Alguns estudos mostram, ainda, sua atividade na aceleração da diferenciação dos queratinócitos em culturas de células, (TANNO, 2004) e atividade anti-inflamatórias (BIEDRON, 2008).

Feldmann e Maibach (1970) mostraram uma suficiente penetração percutânea da niacinamida na pele humana, destacando a possibilidade da aplicação tópica. Shalita et al. (1995), Kaymak e Onder (2008) e Sarasoglu et al. (2011), estudaram a aplicação tópica desta vitamina na acne e encontraram que ela tem se mostrado eficaz na redução das lesões inflamatórias.

A vitamina B6 (piridoxina) também é uma vitamina hidrossolúvel, a qual apresenta atividades anti-oxidantes e anti-inflamatórias (KATO, 2012; WONDRAK; JACOBSON, 2012).

Tem-se mostrado sua atividade anti-seborreica e seus benefícios na acne pré-menstrual quando administrada via oral (MAGIN et al., 2006) no entanto, a literatura carece

de estudos que mostram sua eficácia na diminuição das lesões acneicas.

A vitamina B6 é instável frente à oxidação e à temperatura, o que torna difícil seu uso em formulações tópicas. Diante disso, Ochiai et al. (2006), desenvolveram e avaliaram a eficácia clínica de um derivado lipossolúvel desta vitamina e observaram o aumento da estabilidade e uma melhora significativa na hidratação da pele.

2.3. Uso de produtos cosméticos nos cuidados da pele acnéica

Produtos cosméticos contribuem para o sucesso do tratamento anti-acne fornecendo produtos de higiene, melhorando a irritação e o ressecamento induzido por outros tratamentos e promovendo a fotoproteção e, além disso, podem contribuir diretamente na obtenção de um benefício terapêutico, quando utilizado sozinho ou associado com medicamentos (GURRERO, 2010).

Em função de a pele acneica apresentar características específicas, é necessário que os produtos direcionados a ela atendam alguns requisitos de forma que possam contribuir com a manutenção deste tipo de pele. De acordo com Draelos (2001) produtos cosméticos utilizados com a finalidade de uso na pele acneica devem ser submetidos ao teste de comedogenicidade e apresentarem chances mínimas de causar irritação cutânea.

Certos ingredientes presentes em alguns produtos são capazes de induzir a formação de comedões, sendo que a relação entre o uso de tais ingredientes e o surgimento destas lesões foi estudado por Kligman e Mills (1972), os quais denominaram de “acne cosmética”.

Baseado nisso, o teste de comedogenicidade é realizado visando assegurar que a formulação não possui potencial em formar comedões, sendo, portanto, importante em termos de segurança e desempenho do produto.

Além disso, irritação cutânea causada por matérias-primas cosméticas também é um importante fator a ser considerado, principalmente, quando se trata de pele acneica, uma vez que, ela pode levar à deficiência na barreira cutânea, favorecendo o surgimento de tais reações (DRAELOS, 2001).

Diante disso, ensaios de compatibilidade são feitos para comprovar que um produto não apresenta irritação sob circunstâncias normais de uso ou sob condições de mau uso. Este teste representa o primeiro contato do produto com a pele fornecendo, dessa maneira, informações acerca da segurança, a qual é imprescindível para a qualidade de cosméticos (BRASIL, 2004).

2.4. Estabilidade de formulações dermocosméticas

Cada componente de uma formulação, sendo ele ativo ou não, pode afetar a estabilidade de um produto, sendo que conforme sua origem, essas alterações podem ser classificadas como extrínsecas, ou seja, àquelas determinadas por fatores externos, ou intrínsecas, quando determinadas por fatores inerentes à própria formulação (BRASIL, 2004).

Um fator intrínseco determinante para estabilidade de formulações é o valor de pH, o qual deve ser considerado em uma formulação para assegurar a compatibilidade entre as matérias-primas que serão utilizadas como veículo e os ingredientes ativos que farão parte da mesma (BRASIL, 2004).

Outra alteração intrínseca importante pode ser ocasionada pela incompatibilidade física, que pode ocorrer por precipitação, cristalização, separação de fases, etc. (BRASIL, 2004).

Durante a fase inicial do desenvolvimento de produtos, normalmente são empregados a centrifugação e os testes preliminares. Estes estudos são realizados nesta etapa visando auxiliar e orientar na escolha da formulação (BRASIL, 2004).

A centrifugação faz com que as partículas presentes na formulação se movam no seu interior por meio da força da gravidade e, dessa forma, possíveis instabilidades são antecipadas, que poderão ser observadas na forma de precipitação, separação de fases, formação de *caking*, coalescência, entre outras (BRASIL, 2004).

Em relação aos estudos de estabilidade preliminar, as formulações são submetidas a condições extremas de temperatura para acelerar possíveis reações entre seus componentes, podendo-se avaliar o valor de pH e as características macroscópicas e organolépticas, como cor, odor, homogeneidade e separação de fase (BRASIL, 2004).

Podem ser empregados, ainda, estudos do comportamento reológico que irão avaliar a formulação quanto à sua estabilidade física.

A reologia estuda o fluxo e a deformação de fluidos e também tem se mostrado útil na fase de desenvolvimento, auxiliando na triagem de formulações (CHIARI et al., 2012).

Da mesma forma como realizados os testes preliminares de estabilidade, as amostras podem ser expostas a altas e baixas temperaturas, sendo possível avaliar as alterações provocadas por estas condições por meio das curvas de fluxo (CHIARI et al., 2012).

A realização dos estudos de estabilidade é imprescindível, pois a eficácia, bem como a segurança de uma formulação cosmética depende da integridade e compatibilidade dos ingredientes presentes nela.

2.5. Avaliação sensorial

Um fator importante a ser considerado no desenvolvimento de uma formulação, além dos estudos de estabilidade, são suas características sensoriais, uma vez que estas podem influenciar de maneira significativa na aceitação do produto pelo consumidor. Dependendo da aceitação do consumidor em relação às características sensoriais, o usuário pode variar a forma de aplicação, a frequência de uso e a quantidade de produto utilizada (GOMES et al., 1998).

A qualidade avaliada por um formulador é baseada na estabilidade e confiabilidade que o produto permaneça 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 et al., 2005).

De acordo com Parente et al. (2010) tem sido desenvolvidas, na última década, várias metodologias que possibilitem obter informações a respeito da percepção do consumidor em relação as características sensoriais do produto e dentre elas, tem sido utilizado um tipo de questionário denominado “check-all-that-apply” (CATA).

Esse questionário consiste em uma lista de palavras ou frases, em que os participantes devem selecionar todos os itens que consideram adequados para descrever o produto (ADAMS, 2007).

Em um estudo realizado por Parente et al. (2011), os autores observaram que usando diferentes grupos de termos, esta metodologia forneceu informações relevantes sobre a percepção do consumidor no que diz respeito aos diferentes aspectos das amostras. Além disso, esse questionário possibilitou a percepção relacionada às características sensoriais do produto, dos seus efeitos sobre a pele, bem como as aplicações cosméticas para as quais foram consideradas adequadas.

2.6. Avaliação da eficácia de produtos cosméticos

Diferentes tipos de estudos experimentais podem ser usados para fornecer dados sobre o desempenho de produtos cosméticos e dependendo do uso pretendido, é possível utilizar e combinar diferentes abordagens experimentais (COLIPA, 2008; BYRNE, 2010).

De acordo com *COLIPA Efficacy Evaluation Guidelines* (2008), a avaliação da eficácia de uma formulação cosmética pode ser realizada por meio de testes *in vitro/ex vivo* ou *in vivo* utilizando voluntários humanos.

Estudos *in vitro/ex vivo* são ferramentas úteis na seleção do melhor ingrediente em meio a vários outros e para estimar a relação entre a dose e a eficácia. Contudo, fornecem apenas informações superficiais acerca da eficácia de um produto final e, dessa forma, são utilizados para suportar os benefícios de certos componentes em conjunto com métodos *in vivo*, os quais são capazes de refletir o efeito do produto na pele humana (SERUP, 2001; ROURE et al., 2011).

Em relação à avaliação *in vivo* com voluntários humanos, podem ser realizados os testes sensoriais, dentre eles a autoavaliação e a avaliação por profissionais e os métodos instrumentais.

A avaliação sensorial é baseada na apreciação do desempenho do produto por meio dos sentidos. A autoavaliação, realizada pelo teste em uso por consumidores, pode fornecer informações acerca da percepção das propriedades do produto cosmético, bem como da melhora após o tratamento, baseado nos parâmetros que podem ser observados e sentidos (FLUHR, 2011).

Além da autoavaliação, os estudos podem ser conduzidos sob a supervisão médica, em que os benefícios cosméticos serão avaliados pela observação clínica, podendo ser quantificados por comparação com os resultados iniciais, a região não tratada, um placebo ou um produto de referência (COLIPA, 2008).

Os testes instrumentais são realizados com equipamentos que podem medir precisamente a pele dando informações sobre sua estrutura e função. Nas últimas décadas métodos não invasivos de biofísica e de imagem capazes de avaliar a eficácia de forma objetiva, tem sido desenvolvidos (SERUP, 2001).

As técnicas de biofísica são baseadas na medida das diferentes propriedades físicas da pele, como transporte de água, capacitância elétrica, elasticidade, etc., (SALVADOR; CHISVERT, 2007) e as técnicas de imagem, utilizam câmeras que possuem luzes de diferentes comprimentos de onda, para a obtenção de imagens macro e microscópicas.

Tais técnicas permitem a análise do estado da pele e tem proporcionado uma nova compreensão e fornecido informações específicas acerca de sua morfologia e fisiologia.

A avaliação por técnicas não invasivas são capazes de caracterizar as propriedades de superfície, como descamação e ressecamento (CASETTI et al., 2011), cor e pigmentação (PARK et al., 2006) e relevo e rugas (PENA FERREIRA et al., 2010); a estrutura da pele, dentre as técnicas o ultra-som de alta frequência (KIM et al., 2013) e a microscopia confocal (GONZÁLEZ; GILABERTE-CALZADA, 2008); e as funções, como superfície lipídica e produção de sebo (FURUICHI et al., 2010; DOBREV, 2007), evaporação de água e

transpiração (MACHADO et al., 2010) e propriedades mecânicas (OHSHIMA et al., 2012), dentre outros parâmetros (SERUP, 2001; FRITSCH et al., 2009).

3. Objetivo

O objetivo do presente estudo foi o desenvolvimento de formulações dermocosméticas para a pele acneica contendo vitamina B3, derivado lipossolúvel de vitamina B6 e PCA de zinco bem como a avaliação da estabilidade e eficácia clínica dessas formulações.

4. Material e Métodos

4.1. Matérias-primas

As matérias-primas estão de acordo com o INCI (*International Nomenclature of Cosmetic Ingredient*), o nome comercial e o fornecedor/ fabricante.

- Xanthan Gum, Keltrol[®] SFT – Kelco - Quantiq;
- Xanthan Gum, – Funfeng[®] - Mapric;
- Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, Carbopol[®] Ultrez 20 - Lubrizol;
- Hydroxypropyl Starch Phosphate, Structure[®] XL - Sarfam;
- Hydroxyethylcellulose, Natrosol[®] 250 HHR - Galena;
- Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60, Simulgel[®] FL - Chemyunion;
- Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside, Novemer[®] EC-2 - Lubrizol;
- Tribehenin PEG-20 Esters, Emulium[®] 22 - Brasquim;
- Glyceryl Stearate and PEG-75 Stearate, Gelot[®] 64 - Brasquim;
- Propylene Glycol - Mapric;
- Butylene Glycol - Mapric;
- Octyl Stearate, Cetiol[®] 868 - Chemspecc;
- Glycereth-7 Triacetate, Pelemol[®] G7A - Brasquim;
- Octyldodecyl Myristate, MOD[®] - Brasquim;
- C10-18 Triglycerides, Lipocire[®] A - Brasquim;
- Methyl Glucose Sesquistearate, Glucate[®] SS - Lubrizol;
- PEG-20 Methyl Glucose Sesquistearate, Glucamate[®] SSE - Lubrizol;
- Polysorbate 20, Tween[®] 20 - Mapric;
- Cyclopentasiloxane, DC[®] 245 - D'altomare;
- Polypropylene, Mattewax[®] 511 – Lipo do Brasil;
- BHT - Mapric;
- Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben, Chemynol[®] - Chemyunion;
- Niacinamide – Niacinamide PC[®] - DSM – Sarfam;
- Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate – VB6IP[®] - Nikkol – Cosmotec;
- Zinc PCA – Ajidew[®] ZN 100 – Ajinomoto – Quantiq.

4.2. Equipamentos e acessórios

- Agitador mecânico, Heidolph[®], RZR 2021;
- Balança analítica Ohaus, modelo AS 200;
- Balança eletrônica Marte, modelo AS 2000;
- Centrífuga - Excelsa Baby II, modelo 206-R;
- Peagâmetro, Digimed[®], modelo DM 20;
- Chapa de aquecimento;
- Termômetro;
- Vidrarias em geral;
- Reometro DV-III digital tipo Cone & Placa (BROOKFIELD), acoplado ao *software* Rheocalc versão V1.01.
- SkinpHmeter[®] PH 900 PC (Courage Khazaka, Alemanha);
- Sebumeter[®] SM 815 (Courage-Khasaka, Alemanha);
- Tewameter[®] TM 300 (Courage-Khasaka, Alemanha);
- Visioface[®] (Courage Khazaka, Alemanha);
- Visiopor[®] PP34N (Courage Khazaka, Alemanha);
- Vivascope[®] 1500 (Lucid, Estados Unidos).

4.3. Desenvolvimento das formulações

As matérias-primas (as quais serão referidas no texto pela nomenclatura INCI) utilizadas para a elaboração das formulações foram escolhidas levando em consideração: a compatibilidade com eletrólitos, a capacidade do sistema emulsificante, a faixa de pH compatível com o pH de estabilidade das vitaminas, além das características sensoriais, interações e adequação das matérias-primas de acordo com o tipo de pele, tendo em vista os benefícios que cada uma pode acrescentar ao produto final.

Dessa forma, após busca em literaturas técnicas das matérias-primas disponíveis no mercado, foram selecionados polímeros hidrofílicos (*Xanthan Gum*, *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*, *Hydroxypropyl Starch Phosphate* e *Hydroxyethylcellulose*), polímeros emulsionantes (*Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60* e *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside*),

emulsionantes (*Methyl Glucose Sesquistearate*, *PEG-20 Methyl Glucose Sesquistearate*, *Tribehenin PEG-20 Esters* e *Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate*), umectantes (*Propylene Glycol* e *Butylene Glycol*), emolientes (*Octyl stearate*, *Glycereth-7 Triacetate*, *Octyldodecyl Myristate*), agente de textura (*C10-18 Triglycerides*), solubilizantes (*Polysorbate 20*), silicone (*Cyclopentasiloxane*), pó modificador de sensorial (*Polypropylene*), antioxidante (*BHT*) e conservante (*Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben*).

O protocolo de desenvolvimento das formulações consistiu basicamente de três etapas sendo a primeira delas a escolha do polímero hidrofílico (etapa 1), a outra, a escolha do sistema emulsionante (etapa 2) e a última (etapa 3) a combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante.

Os polímeros hidrofílicos foram testados quanto a sua estabilidade na presença do ácido 2-pirrolidona-5-carboxílico combinado com o zinco (*Zinc PCA*) em diferentes concentrações. Dessa forma, os demais ingredientes ativos não participaram desta fase do desenvolvimento.

Para isso, elaboraram-se formulações “teste” (FT1a, FT1b, FT1c e FT1d ; FT2a, FT2b, FT2c e FT2d e FT3a, FT3b, FT3c, FT3d, FT3e e FT3f - Tabelas 1, 2 e 3 respectivamente).

Tabela 1. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (Xanthan gum).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	FT1a	FT1b	FT1c	FT1d
Xanthan Gum	0,5	0,5	1,5	1,5
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Água qsp	100	100	100	100

Tabela 2. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	FT2a	FT2b	FT2c	FT2d
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	0,5	0,5	1,0	1,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Água qsp	100	100	100	100
Solução de NaOH 18% qs		pH 5,5-6,5		

Tabela 3. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (Hydroxypropyl Starch Phosphate).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)					
	FT3a	FT3b	FT3c	FT3d	FT3e	FT3f
Hydroxypropyl Starch Phosphate	2,0	2,0	3,0	3,0	4,0	4,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0	----	1,0
Água qsp	100	100	100	100	100	100

Na segunda etapa do processo de desenvolvimento das formulações, foram selecionados os polímeros emulsionantes *Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60* e *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside* e os emulsionantes *Tribehenin PEG-20 Esters* e *Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate*.

Seguindo a mesma metodologia realizada para os polímeros hidrofílicos, foram elaboradas formulações “teste” (TF4a, TF4b, TF4c, TF4d, TF4e e TF4f; TF5a, TF5b, TF5c, TF5d, TF5e e TF5f; TF6a, TF6b, TF6c, TF6d, e TF7a, TF7b, TF7c, TF7d, – Tabelas 4, 5, 6 e 7 respectivamente) utilizando-se diferentes concentrações dos polímeros emulsionantes, para se verificar a estabilidade dessas matérias-primas selecionadas para a etapa 2, quando adicionado o ingrediente ativo *Zinc PCA*.

Tabela 4. Formulação desenvolvida na etapa 2 – escolha do sistema emulsionante (Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)					
	FT4a	FT4b	FT4c	FT4d	FT4e	FT4f
Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60	2,0	2,0	3,0	3,0	4,0	4,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0	----	1,0
Água qsp	100	100	100	100	100	100

Tabela 5. Formulação desenvolvida na etapa 2 – escolha do sistema emulsionante (Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)					
	FT5a	FT5b	FT5c	FT5d	FT5e	FT5f
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	2,0	2,0	3,0	3,0	4,0	4,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0	----	1,0
Água qsp	100	100	100	100	100	100

Tabela 6. Formulação desenvolvida na etapa 2 – escolha do sistema emulsionante (Tribehenin PEG-20 Esters).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	FT6a	FT6b	FT6c	FT6d
Tribehenin PEG-20 Esters	3,5	3,5	5,0	5,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Água qsp	100	100	100	100

Tabela 7. Formulação desenvolvida na etapa 2 – escolha do sistema emulsionante (Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)					
	FT7a	FT7b	FT7c	FT7d	FT7e	FT7f
Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate	2,0	2,0	3,0	3,0	4,0	4,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0	----	1,0
Água qsp	100	100	100	100	100	100

Após a elaboração das formulações testes referentes às etapas 1 e 2, realizou-se a terceira etapa da pesquisa e desenvolvimento das formulações objeto de estudo, na qual foram testadas combinações dos polímeros hidrofílicos com os polímeros emulsionantes (Tabelas 8 a 12).

Tabela 8. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Xanthan gum + Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	F1a	F1b	F1c	F1d
Xanthan Gum	1,5	1,5	1,5	1,5
Propylene Glycol	2,5	2,5	2,5	2,5
Butylene Glycol	2,5	2,5	2,5	2,5
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	1,5	1,5	4,0	4,0
PEG-20 Methyl Glucose Sesquistearate	1,0	1,0	1,0	1,0
Methyl Glucose Sesquistearate	0,5	0,5	0,5	0,5
Octyl stearate	3,0	3,0	3,0	3,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0	----	3,0
Niacinamide	----	4,0	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7	0,7	0,7
Água qsp	100	100	100	100

Tabela 9. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer + Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)	
	F2a	F2b
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	1,0	1,0
Propylene Glycol	2,5	2,5
Butylene Glycol	2,5	2,5
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	4,0	4,0
PEG-20 Methyl Glucose Sesquistearate	1,0	1,0
Octyl stearate	3,0	3,0
Zinc PCA	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0
Niacinamide	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7
Água qsp	100	100
Solução de NaOH 18% qs	pH 5,5-6,5	

Tabela 10. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxypropyl Starch Phosphate + Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	F3a	F3b	F3c	F3d
Hydroxypropyl Starch Phosphate	2,0	2,0	2,0	2,0
Propylene Glycol	3,0	3,0	3,0	3,0
Butylene Glycol	3,0	3,0	3,0	3,0
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	2,0	2,0	3,0	3,0
C10-18 Triglycerides	2,0	2,0	2,0	2,0
Polysorbate 20	1,0	1,0	1,0	1,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0	----	3,0
Niacinamide	----	4,0	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7	0,7	0,7
Água qsp	100	100	100	100

Tabela 11. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer + Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)	
	F4a	F4b
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	0,5	0,5
Propylene Glycol	2,5	2,5
Butylene Glycol	2,5	2,5
Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60	4,0	4,0
Octyl stearate	3,0	3,0
Zinc PCA	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0
Niacinamide	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7
Água qsp	100	100
Solução de NaOH 18% qs	pH 5,5-6,5	

Tabela 12. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxypropyl Starch Phosphate + Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	F5a	F5b	F5c	F5d
Hydroxypropyl Starch Phosphate	2,0	2,0	2,0	2,0
Propylene Glycol	3,0	3,0	3,0	3,0
Butylene Glycol	3,0	3,0	3,0	3,0
Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60	2,0	2,0	3,0	3,0
C10-18 Triglycerides	2,0	2,0	2,0	2,0
Polysorbate 20	1,0	1,0	1,0	1,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0	----	3,0
Niacinamide	----	4,0	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7	0,7	0,7
Água qsp	100	100	100	100

De acordo com a estabilidade observada para os polímeros hidrofílicos, procedeu-se com a combinação destes com o emulsionante *Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate*, nas concentrações de 2 e 4% (Tabelas 13 e 14). Foram selecionados os polímeros *Xanthan Gum* e *Hydroxypropyl Starch Phosphate*.

Tabela 13. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Xanthan Gum + Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	F6a	F6b	F6c	F6d
Xanthan Gum	1,0	1,0	1,0	1,0
Propylene Glycol	2,5	2,5	2,5	2,5
Butylene Glycol	2,5	2,5	2,5	2,5
Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate	2,0	2,0	4,0	4,0
C10-18 Triglycerides	5,0	5,0	5,0	5,0
Octyldodecyl Myristate	5,0	5,0	5,0	5,0
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05
Glycereth-7 Triacetate	5,0	5,0	5,0	5,0
Polypropylene	2,0	2,0	2,0	2,0
Polysorbate 20	1,0	1,0	1,0	1,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0	----	3,0
Niacinamide	----	4,0	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7	0,7	0,7
Água qsp	100	100	100	100

Tabela 14. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxypropyl Starch Phosphate + Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	F7a	F7b	F7c	F7d
Hydroxypropyl Starch Phosphate	4,0	4,0	4,0	4,0
Propylene Glycol	3,5	3,5	3,5	3,5
Butylene Glycol	3,5	3,5	3,5	3,5
Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate	3,0	3,0	4,0	4,0
C10-18 Triglycerides	3,0	3,0	3,0	3,0
Octyldodecyl Myristate	5,0	5,0	5,0	5,0
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05
Glycereth-7 Triacetate	5,0	5,0	5,0	5,0
Polysorbate 20	1,0	1,0	1,0	1,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0	----	3,0
Niacinamide	----	4,0	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7	0,7	0,7
Água qsp	100	100	100	100

A partir dos resultados obtidos com as formulações elaboradas anteriormente, foi realizada uma nova formulação “teste”, referente à primeira etapa, com o polímero hidrofílico *Hydroxyethylcellulose* (Tabela 15) e com uma goma xantana proveniente de outro fabricante, denominada neste estudo de *Xanthan gum Keltrol*.

Tabela 15. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (*Hydroxyethylcellulose*).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)	
	FT8a	FT8b
Hydroxyethylcellulose	0,5	0,5
Zinc PCA	----	1,0
Água qsp	100	100

Tabela 16. Formulação desenvolvida na etapa 1 - escolha do polímero hidrofílico (*Xanthan gum Keltrol*).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)	
	FT9a	FT9b
Xanthan gum Keltrol	0,5	0,5
Zinc PCA	----	1,0
Água qsp	100	100

Após o resultado obtido com a formulação “teste” dos polímeros *Hydroxyethylcellulose* e *Xanthan gum Keltrol*, foram elaboradas formulações com *Hydroxyethylcellulose* e *Tribehenin PEG-20 Esters* (Tabela 17), *Hydroxypropyl Starch Phosphate* e *Tribehenin PEG-20 Esters* (Tabela 18), *Xanthan Gum* e *Tribehenin PEG-20 Esters* (Tabela 19) e *Xanthan gum Keltrol* e *Tribehenin PEG-20 Esters* (Tabela 20).

Tabela 17. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxyethylcellulose + Tribehenin PEG-20 Esters).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	F8a	F8b	F8c	F8d
Hydroxyethylcellulose	0,5	0,5	0,5	0,5
Propylene Glycol	3,5	3,5	3,5	3,5
Butylene Glycol	3,5	3,5	3,5	3,5
Tribehenin PEG-20 Esters	3,5	3,5	5,0	5,0
C10-18 Triglycerides	3,0	3,0	3,0	3,0
Octyldodecyl Myristate	8,0	8,0	8,0	8,0
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05
Polypropylene	2,0	2,0	2,0	2,0
Polysorbate 20	1,0	1,0	1,0	1,0
Cyclopentasiloxane	2,0	2,0	2,0	2,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0	----	3,0
Niacinamide	----	4,0	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7	0,7	0,7
Água qsp	100	100	100	100

Tabela 18. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Hydroxypropyl Starch Phosphate + Tribehenin PEG-20 Esters).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)			
	F9a	F9b	F9c	F9d
Hydroxypropyl Starch Phosphate	3,0	3,0	3,0	3,0
Propylene Glycol	3,5	3,5	3,5	3,5
Butylene Glycol	3,5	3,5	3,5	3,5
Tribehenin PEG-20 Esters	3,5	3,5	5,0	5,0
C10-18 Triglycerides	3,0	3,0	3,0	3,0
Octyldodecyl Myristate	8,0	8,0	8,0	8,0
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05
Polypropylene	2,0	2,0	2,0	2,0
Polysorbate 20	1,0	1,0	1,0	1,0
Cyclopentasiloxane	2,0	2,0	2,0	2,0
Zinc PCA	----	1,0	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0	----	3,0
Niacinamide	----	4,0	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7	0,7	0,7
Água qsp	100	100	100	100

Tabela 19. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Xanthan Gum + Tribehenin PEG-20 Esters).

MATÉRIAS-PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)	
	F10a	F10b
Xanthan Gum	0,5	0,5
Propylene Glycol	3,5	3,5
Butylene Glycol	3,5	3,5
Tribehenin PEG-20 Esters	5,0	5,0
C10-18 Triglycerides	3,0	3,0
Octyldodecyl Myristate	8,0	8,0
BHT	0,05	0,05
Polypropylene	2,0	2,0
Polysorbate 20	1,0	1,0
Cyclopentasiloxane	2,0	2,0
Zinc PCA	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0
Niacinamide	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7
Água qsp	100	100

Tabela 20. Formulação desenvolvida na etapa 3 – combinação do polímero hidrofílico com o sistema emulsionante (Xanthan Gum Keltrol + Tribehenin PEG-20 Esters).

MATÉRIAS -PRIMAS	CONCENTRAÇÃO % (p/p)	
	F11a	F11b
Xanthan Gum Keltrol	0,5	0,5
Propylene Glycol	3,5	3,5
Butylene Glycol	3,5	3,5
Tribehenin PEG-20 Esters	5,0	5,0
C10-18 Triglycerides	3,0	3,0
Octyldodecyl Myristate	8,0	8,0
BHT	0,05	0,05
Polypropylene	2,0	2,0
Polysorbate 20	1,0	1,0
Cyclopentasiloxane	2,0	2,0
Zinc PCA	----	1,0
Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate	----	3,0
Niacinamide	----	4,0
Phenoxyethanol and Methylparaben and Ethylparaben and Propylparaben and Butylparaben	0,7	0,7
Água qsp	100	100

4.4. Centrifugação

Neste teste, 3 gramas das formulações F6a, F6b, F6c e F6d; F7a, F7b, F7c e F7d; F8a, F8b, F8c e F8d; F9a, F9b, F9c e F9d e F10a, F10b e F11a e F11b foram centrifugadas a 3000rpm (correspondente a 800 vezes a gravidade), por 30 minutos (BRASIL, 2004), em três ciclos, utilizando a centrífuga Excelsa Baby II, modelo 206-R, potência 0,0440, Fanem. Após cada ciclo, avaliou-se visualmente qualquer sinal de instabilidade das formulações (MAIA CAMPOS; BADRA, 1992).

4.5. Determinação do pH

A medida do pH foi realizada em pHmêtro Digimed, modelo DM 20, nas formulações F8c e F8d; F9c e F9d, F10a e F10b e F11a e F11b.

O ajuste do pH, foi realizado por meio da adição da solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 10%.

4.6. Testes preliminares de estabilidade

Os testes preliminares de estabilidade foram realizados com as formulações F8c e F8d; F9c e F9d e F11a e F11b.

Cada formulação foi preparada e acondicionada, separadamente, em 4 embalagens plásticas opacas, sendo uma armazenada no ambiente ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$) e as demais, submetidas ao estresse térmico nas temperaturas $4(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ (geladeira Eletrolux), $37(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ e $45(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ (estufas Eletrolab, modelo III FC com controle de umidade (70%) e temperatura).

Foram analisados o aspecto macroscópico, as características organolépticas e os valores de pH (BRASIL, 2004).

4.6.1. Análise do aspecto macroscópico e das características organolépticas

As formulações objeto de estudo foram observadas visualmente, quanto a alterações do tipo: cor, separação de fases e homogeneidade, após 28 dias de armazenamento das formulações.

As formulações que se apresentaram estáveis frente a esse teste, tiveram seus valores de pH determinados.

4.6.2. Valor de pH

Após 28 dias de armazenamento das amostras, foi realizada a medida do pH, em triplicata, em pHmêtro Digimed, modelo DM 200.

4.7. Determinação do comportamento reológico

4.7.1. Estudo de estabilidade física

As formulações que se apresentaram estáveis frente aos testes preliminares de estabilidade, foram submetidas ao estudo do comportamento reológico.

Para isso, cada uma das formulações foram novamente elaboradas e acondicionadas em 4 embalagens plásticas opacas, as quais foram mantidas por 24 horas em temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$) antes da primeira análise.

Após as 24 horas, foi realizada a primeira análise (denominada T_0) e, em seguida, as formulações foram armazenadas no ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$), na geladeira, $4(\pm 1)^\circ\text{C}$ (Eletrolux) e em estufas termostatzadas a $37(\pm 1)^\circ\text{C}$ e $45(\pm 1)^\circ\text{C}$ (Eletrolab, modelo III FC com controle de umidade, 70% de umidade relativa) para a avaliação da estabilidade física frente ao estresse térmico.

As demais análises no reômetro foram realizadas em intervalos de 7 dias, durante 28 dias, sendo que 24 horas antes das medidas, as formulações eram retiradas das estufas e da geladeira e mantidas na temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$) juntamente com àquelas que já se encontravam nesta temperatura.

Foi utilizado o reômetro rotacional *R/S-CPS Plus* (Cone/Placa e Placa/Placa) *Brookfield*, com *spindle* P50 e sonda de temperatura *Pt 100 1/3 DIN*, acoplado ao *software* Rheo versão V2.08.

Para a obtenção da curva ascendente, utilizou-se velocidades de rotação progressivamente maiores (0-120 rpm), e para a curva decendente, o procedimento foi repetido no sentido inverso, ou seja, velocidades de rotação progressivamente menores (120-0 rpm). As medidas foram realizadas em triplicatas e efetuadas a $25(\pm 1)^\circ\text{C}$ (MOSER et al., 2013).

As curvas de fluxo obtidas no T₀, foram testadas nos modelos de Ostwald, Equação 1 (BARNES et al., 1993), Herschel-Bulkley, Equação 2 (CHABBRA, 2010), Cross, Equação 3 (CROSS, 1965) e Cross com a inclusão do termo *yield stress*, Equação 4 (RAYMENT et al., 1995) para descrever o comportamento de fluxo.

$$\tau = K\gamma^n \quad (1)$$

em que τ é a tensão de cisalhamento, medida em [Pa]; K é o índice de consistência, medido em [Pasⁿ]; γ é a taxa de cisalhamento, medida em [sec⁻¹] e n , é o índice de fluxo.

$$\tau = \sigma_0 + m\gamma^n \quad (2)$$

em que τ é a tensão de cisalhamento, medida em [Pa], σ_0 é o *yield stress*, medido em [Pa], m é a consistência, medida em [Pasⁿ]; γ é a taxa de cisalhamento, medida em [sec⁻¹] e n , é o índice de fluxo.

$$\tau = \left[\eta_0 + \frac{(\eta_\infty - \eta_0)}{1 + (K_{CR}\gamma)^n} \right] \gamma \quad (3)$$

em que τ é a tensão de cisalhamento, medida em [Pa]; η_0 é a viscosidade inicial, medida em [Pas]; η_∞ é a viscosidade no infinito [Pas]; K_{CR} é o tempo de relaxação, medido em [sec]; γ é a taxa de cisalhamento, medida em [sec⁻¹] e n , é o expoente adimensional.

$$\tau = \left[\eta_0 + \frac{(\eta_\infty - \eta_0)}{1 + (K_{CR}\gamma)^n} \right] \gamma + \sigma_0 \quad (4)$$

em que τ é a tensão de cisalhamento, medida em [Pa]; η_0 é a viscosidade inicial, medida em [Pas]; η_∞ é a viscosidade no infinito [Pas]; K_{CR} é o tempo de relaxação, medido em [sec]; γ é a taxa de cisalhamento, medida em [sec⁻¹]; n , é o expoente adimensional e σ_0 é o *yield stress*, medido em [Pa].

A qualidade do ajuste das curvas foi avaliada por meio do coeficiente de determinação (R²), raiz quadrada do quadrado médio do resíduo (RQMR) e do Qui quadrado (χ^2). Foi também levado em consideração o erro gerado no ajuste para cada parâmetro, devendo ele ser pelo menos uma ordem de grandeza menor que o valor do parâmetro correspondente.

4.7.2. Análise Estatística

Os valores obtidos nos dias 1, 7, 14, 21 e 28 (denominados T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28}) para cada formulação nas temperaturas de armazenamento ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$), $4(\pm 1)^\circ\text{C}$, $37(\pm 1)^\circ\text{C}$ e $45(\pm 1)^\circ\text{C}$, foram comparados pelo teste *Kruskal-Wallis*, no nível de significância de 5%, usando o *software* estatístico OriginPro 8.

Uma vez que a análise em T_0 foi realizada antes de armazenar as formulações nas diferentes temperaturas, ou seja, todas se encontravam na temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$), foram considerados os 12 valores (triplicata proveniente das 4 embalagens de cada formulação) na análise estatística, sendo utilizado os valores máximo, mínimo e a mediana, para representar essa população.

5. Casuística e Métodos

O presente projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, e foi aprovado em 17/05/2012, Protocolo CEP/FCFRP n° 248 (ANEXO I).

5.1. Avaliação primária da compatibilidade cutânea

O estudo de compatibilidade cutânea foi realizado com as formulações F11a e F11b (formulação veículo e formulação adicionada dos ingredientes ativos, respectivamente) em parceria com o Laboratório de Eficácia e Segurança EVIC Brasil, cuja casuística e métodos encontram-se no ANEXO II.

5.2. Avaliação da comedogenicidade

O estudo de comedogenicidade foi realizado com a formulação F11a (formulação veículo) em parceria com o Laboratório de Eficácia e Segurança EVIC Brasil, cuja casuística e métodos encontram-se no ANEXO III.

5.3. Avaliação sensorial

5.3.1. Triagem dos voluntários

O recrutamento dos voluntários foi realizado com base nos critérios de inclusão e exclusão designados para o estudo.

Foram incluídos no estudo voluntários saudáveis (ou seja, que não apresentavam enfermidades), do sexo feminino, com idades entre 18 e 30 anos e que utilizam ou já utilizaram produtos cosméticos na forma de emulsão.

Os critérios de exclusão utilizados foram gravidez ou aleitamento, histórico de reações adversas com o uso de produtos cosméticos, uso de medicamentos passíveis de produzir resposta cutânea anormal e doenças dermatológicas localizadas ou generalizadas.

Participaram deste estudo 21 voluntários, os quais foram orientados sobre os objetivos e métodos da pesquisa e, concordando em participar da mesma, assinaram o Termo de

Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO IV) 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).

5.3.2. Aplicação do questionário

A avaliação sensorial foi realizada com a aplicação, randomizada, de 50 µL da formulação F11b, em uma região de 5cm², no antebraço dos voluntários. Antes de iniciar o estudo, os voluntários foram orientados a espalhar a formulação realizando 20 movimentos circulares no sentido horário até observarem a absorção da formulação pela pele.

O questionário utilizado foi o “check-all-that-apply” (CATA) com questões relacionadas (1) as características sensoriais, as quais incluíram os parâmetros fácil de espalhar, facilmente absorvida, oleosa/gordurosa, pegajosa e suave e (2) aos efeitos na pele: deixa a pele macia, deixa resíduo oleoso, deixa a pele hidratada (PARENTE et al., 2010).

5.3.3. Análise dos dados

Os dados experimentais obtidos na avaliação sensorial da formulação objeto de estudo foram submetidos ao cálculo da frequência absoluta e relativa.

5.4. Avaliação da eficácia clínica da formulação objeto de estudo

5.4.1. Triagem dos voluntários

O recrutamento dos voluntários foi realizado com base nos critérios de inclusão e exclusão designados para o estudo.

Foram incluídos no estudo voluntários saudáveis (ou seja, que não apresentavam enfermidades), do sexo feminino, com idades entre 18 e 30 anos e que possuíam acne inflamatória grau leve, classificação de Pochi et al. (1991), de acordo com a análise realizada pelo médico Dr. João Carlos Simões, dermatologista da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Os critérios de exclusão utilizados foram hábito de fumar, gravidez ou aleitamento, histórico de reações adversas com o uso de produtos cosméticos, uso de medicamentos passíveis de produzir resposta cutânea anormal, alterações hormonais significativas, doenças

dermatológicas localizadas ou generalizadas, ter iniciado o uso de contraceptivo menos de três meses antes ou previsão de iniciar o uso no período do estudo e estar em tratamento, oral ou tópico, da acne.

Os voluntários participantes deste estudo foram orientados sobre os objetivos e métodos da pesquisa e, concordando em participar da mesma, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO IV) 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).

Foram recrutados 31 voluntários, os quais se mostraram interessados em participar do estudo, entretanto levando em consideração os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos, bem como circunstâncias adversas somente 16 participaram do estudo.

5.4.2. Avaliação da eficácia por métodos de biofísica e análise de imagem

Para a avaliação da eficácia da formulação para a pele acneica, proposta neste estudo, as análises utilizando os equipamentos de biofísica e imagem, foram realizadas antes e após o período de seis semanas do uso da referida formulação, a fim de observar seus efeitos sobre a pele.

As medidas instrumentais foram obtidas a partir de 20 minutos da aclimação dos voluntários em ambiente com controle de temperatura, entre 20 e 22°C, e umidade relativa do ar, entre 45 e 55% (DAL'BELO et al., 2006).

No dia do estudo, os voluntários foram orientados a não aplicar nenhum produto cosmético sobre a face e, durante o período das seis semanas, as orientações foram para não iniciar, parar ou trocar o anticoncepcional, não começar a usar filtro solar e/ou maquiagem (como base de rosto, corretivo, pó facial e *blush*) caso não possuam o hábito e caso tenham o costume de utilizar tais produtos, continuar, desde que não trocassem por outra marca que não a habitual.

5.4.2.1. Aplicação da formulação

A formulação utilizada no estudo de eficácia clínica foi a F11b, composta pelos três ingredientes ativos (*Zinc PCA*, *Niacinamide* e *Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate*).

Com o intuito de evitar que os voluntários aplicassem quantidades diferentes de formulação, e assim, minimizar o erro experimental foi utilizada uma válvula dosadora, a qual

libera 1mL de formulação cada vez que é pressionada.

Os voluntários foram orientados a aplicar a formulação duas vezes ao dia, manhã e noite (e dessa forma cada voluntário utilizou 2mL do produto por dia), espalhar a formulação por toda a face até completa absorção, não lavar o rosto em seguida e se for utilizar filtro solar e/ou maquiagem, aplicar a formulação primeiro.

5.4.2.2. Regiões de estudo

A Figura 1 mostra as regiões da face utilizadas para a realização das medidas instrumentais.

Figura 1. Regiões da face em que foi realizado o estudo de eficácia.

As regiões de estudo foram frente, região malar (de forma randomizada para cada lado) e queixo.

Para a contagem de microcomedões, foi utilizada somente a região malar (esquerda/direita). Para o posicionamento do equipamento, foi demarcada uma região de $0,8\text{cm}^2$, dois centímetros abaixo da metade da largura do olho (MERCÚRIO et al., 2013).

5.4.2.3. Metodologias empregadas

5.4.2.3.1. Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo

Para a determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, foi utilizado o equipamento *Corneometer® CM 825* (Courage-Khazaka, Alemanha) (DAL' BELO et al., 2006).

Este equipamento é um medidor da capacitância, o qual é sensível à constante dielétrica relativa do material, no caso a pele, colocado em contato com a superfície do eletrodo. O

aumento do teor de água no estrato córneo, em geral, causará o aumento da constante dielétrica relativa, e dessa forma, o equipamento poderá calcular o conteúdo de água do estrato córneo em unidades arbitrárias (UA) (BERARDESCA, 1997).

Foram realizadas 4 medidas em cada região de estudo e calculadas as médias para cada região separadamente.

5.4.2.3.2. Determinação da perda de água transepidermica

A perda de água transepidermica foi determinada utilizando o equipamento *Tewameter[®] TM 300* (Courage-Khazaka, Alemanha) (CHENG et al., 2007).

O *Tewameter[®] TM 300* mede a evaporação de água da superfície da pele, baseado na Lei de Difusão de Fick (Equação 5) (ROGIERS et al., 2001):

$$J = K_m D \frac{dc}{dx} \quad (5)$$

em que J é o fluxo de água, K_m é o coeficiente de partição, D é o coeficiente de difusão, c a concentração de água e x a distância. O termo dc/dx é o gradiente de concentração de água.

Foram obtidos valores da perda de água transepidermica nas três regiões de estudo (fronte, malar e queixo). A sonda permaneceu em contato com a pele até a obtenção de 45 medidas, sendo utilizada a média desses valores.

5.4.2.3.3. Determinação da quantidade de sebo

O sebo foi quantificado por meio do *Sebumeter[®] SM 815* (Courage-Khasaka, Alemanha) (DOBREV, 2007).

A sonda do *Sebumeter[®] SM 815* consiste de uma tira plástica fosca localizada sobre uma superfície espelhada. Após o contato com o sebo presente na superfície da pele, a fita plástica fosca, torna-se transparente, sendo que essa transparência é mensurada a partir da luz refletida pela superfície espelhada. Os valores apresentados correspondem à quantidade de sebo sobre a superfície da pele em μg de sebo/ cm^2 (PIÉRARD-FRANCHIMONT et al., 1999).

Para a obtenção da quantidade de sebo, a sonda foi pressionada sobre as regiões de estudo durante 30 segundos (PIÉRARD-FRANCHIMONT et al., 1999).

5.4.2.3.4. Determinação do pH cutâneo

O pH da pele foi aferido pelo *Skin-pHMeter*[®] PH 905 (Courage-Khasaka, Alemanha) (ANGELOVA-FISCHER et al., 2010).

Trata-se de um eletrodo planar, o qual pode ser colocado diretamente sobre a pele, com uma unidade contendo o eletrodo ativo e o de referência (PARRA et al., 2003).

O potencial eletroquímico é gerado na parte externa da membrana de vidro e varia com o valor do pH do meio no qual o eletrodo ativo está em contato. O ponto de referência, necessário para a leitura, é fornecido pelo potencial constante do eletrodo de referência. A diferença de potencial gerada entre os eletrodos é medida e dada como um valor de pH (PARRA et al., 2003).

Foram efetuadas três medidas em cada região de estudo, sendo que entre cada medida, a superfície do eletrodo que entra em contato com a pele foi lavada com água deionizada e mantida úmida (EHLERS et al., 2001). Os resultados utilizados na análise estatística foram os valores médios dessas medições sequenciais.

5.4.2.3.5. Contagem de porfirinas

A contagem de porfirinas na superfície folicular foi realizada utilizando o equipamento *Visiopor*[®] PP 34 (Courage-Khasaka, Alemanha) (SZEPETIUK et al., 2011).

Este equipamento consiste em uma câmera UVA com comprimento de onda de 375nm. As porfirinas, metabólitos endógenos da bactéria *P. acnes*, se tornam visíveis como pontos fluorescentes de coloração vermelho-laranja (DOBREV, 2010).

Foi realizada a contagem dos pontos vermelho-laranja das imagens obtidas em cada região por meio do *software* Image J.

5.4.2.3.6. Contagem de microcomedões

O estudo da pele em nível celular foi realizado utilizando o microscópio confocal de reflectância, *Vivascope*[®] 1500 (Lucid, Estados Unidos).

Este microscópio utiliza um feixe de laser de 35 mW com o comprimento de onda próximo ao infra-vermelho (830 nm) e lentes objetivas de 30x, sendo a profundidade alcançada de 200-300 µm (CHU et al., 2011) com uma resolução lateral de 0,5-1 µm e uma resolução axial 2-5 µm, estando essa espessura intimamente relacionada com a espessura

axial das secções histológicas excisadas. Cada imagem tem um campo de visão de 500x500 μm (CALZAVARA-PINTON et al., 2008).

O contraste da imagem é criado pelos diferentes índices de refração dos componentes de pele, sendo que na pele humana, a melanina é a fonte endógena de maior contraste, seguida da queratina, das mitocôndrias e organelas citoplasmática, da cromatina presente nos núcleos e do colágeno na derme (NEHAL et al., 2008).

Para a obtenção das imagens, foi utilizado um anel de metal, o qual foi fixado sobre a pele através de um adesivo (“adhesive window”). No adesivo foi colocado óleo de imersão, antes da fixação do mesmo na pele.

Em seguida, foi capturada uma imagem macroscópica digital com qualidade dermatoscópica (VivaCam[®]), que foi utilizada como um guia para a obtenção das imagens microscópicas nos locais de interesse, e por fim, adicionou-se um gel hidrofílico para o acoplamento do anel ao aparelho, por meio magnético, o qual seguiu a orientação da foto macroscópica.

Foram adquiridas imagens de 5 mm² desde o estrato córneo até a derme reticular superficial (VivaCube), em profundidades sucessivas, com intervalo de 20 μm entre cada imagem.

As imagens adquiridas foram analisadas quanto ao número de microcomedões, os quais foram contados por meio do *software* Image J.

5.4.2.3.7. Contagem das lesões acnéicas inflamatórias por imagens de alta resolução

A contagem das lesões inflamatórias foi realizada por meio do equipamento *Visioface*[®] (Courage-Khasaka, Alemanha) (BARIKBIN et al., 2011).

O equipamento é composto por uma câmera de alta resolução situada em uma cabine facial com luz, onde é possível a obtenção de imagens de alta resolução (LEVY et al., 2004).

Foram obtidas imagens frontais e bilaterais da face de cada voluntário. As lesões foram quantificadas quanto ao número de pápulas, pústulas e lesões escoriadas, pelo médico Dr. João Carlos Simões, dermatologista da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Para a análise estatística utilizou-se o valor total de lesões inflamatórias (soma do número de pápulas, pústulas e lesões escoriadas) de toda a face.

5.4.3. Avaliação da eficácia pela percepção

Neste estudo, os voluntários compararam, por meio de um questionário, como eles percebiam sua pele antes e após o uso da formulação proposta no presente trabalho.

As perguntas consistiram em: (1) Antes de utilizar a formulação (a) observava – cravos brancos, cravos pretos, espinhas e espinha internas e (b) sentia – a pele macia, a pele hidratada, a pele lisa/ homogênea e a pele oleosa; (2) Após as seis semanas de uso da formulação (a) observou - cravos brancos, cravos pretos, espinhas e espinha internas e (b) sentiu – a pele mais macia, a pele mais hidratada, a pele mais lisa/homogênea e a pele menos oleosa.

Os resultados foram expressos pela frequência absoluta.

5.4.4. Análise estatística

Os dados do estudo clínico, foram submetidos ao teste não paramétrico de *Wilcoxon*, no nível de significância de 5%, usando o *software* estatístico OriginPro 8.

6. Resultados

6.1. Desenvolvimento das formulações

Na primeira etapa do desenvolvimento, as formulações “teste” com *Xanthan Gum* (FT1b e FT1d) e *Hydroxypropyl Starch Phosphate* (FT3b, FT3d e FT3f) não apresentaram sinais de instabilidade, ou seja, alteração na consistência frente à adição do *Zinc PCA*, quando comparadas às formulações sem a presença do mesmo (FT1a e FT1b; FT3a, FT3c e FT3e). Em relação àquelas elaboradas com *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* (FT2a, FT2b, FT2c e FT2d), observou-se que as formulações em que o *Zinc PCA* foi adicionado não adquiriram consistência após a neutralização (FT2b e FT2d).

Os resultados obtidos para as formulações “teste” *Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60* (TF4a, TF4b, TF4c, TF4d, TF4e e TF4f) e *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside* (FT5a, FT5b, FT5c, FT5d, FT5e e FT5f), correspondente à etapa 2, foram a perda da consistência das formulações acrescidas de *Zinc PCA* (FT4b, FT4d e FT4f e FT5b, FT5d e FT5f) para os dois polímeros emulsionantes utilizados, em relação às mesmas formulações sem *Zinc PCA* (TF5a, TF5c, TF5e e TF4a, TF4c, e TF4e).

Quanto aos emulsionantes, observou-se que não houve perda na consistência das formulações “teste” FT6a, FT6b, FT6c e FT6d; FT7a, FT7b, FT7c, FT7d, FT7e e FT7f.

As formulações elaboradas na etapa 3 em que se utilizou a combinação de polímeros hidrofílicos e polímeros emulsionantes (F1a, F1b, F1c e F1d; F2a e F2b; F3a, F3b, F3c e F3d; F4a e F4b; F5a, F5b, F5c e F5d), apresentaram perda na consistência frente à adição do *Zinc PCA*, sendo que essa perda de consistência não foi observada nas formulações em que não foi adicionado *Zinc PCA*.

Em relação às formulações *Xanthan Gum* e *Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate* (F6a, F6b, F6c e F6d) e *Hydroxypropyl Starch Phosphate* e *Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate* (F7a, F7b, F7c e F7d), após a adição do *Zinc PCA*, bem como dos demais ingredientes ativos, não tiveram sua consistência alterada, da mesma forma que as formulações sem a adição dos mesmos.

A formulação “teste”, correspondente à etapa 1, com o polímero *Hydroxyethylcellulose* bem como com a *Xanthan gum Keltrol* não apresentaram alteração na consistência após a adição do *Zinc PCA*, quando comparada à formulação não acrescida deste ativo.

Nas formulações desenvolvidas na etapa 3, em que se utilizou o emulsionante

Tribehenin PEG-20 Esters (F8a, F8b, F8c e F8d; F9a, F9b, F9c e F9d , F10a e F10b e F11a e F11b) não houve alteração na consistência na presença do *Zinc PCA*, bem como na presença dos demais ativos.

6.2. Centrifugação

As formulações F8c e F8d, F9c e F9d, F10a e F10b e F11a e F11b não apresentaram separação de fases no teste de centrifugação, sendo consideradas estáveis frente a este teste.

6.3. Determinação do pH

Os valores de pH obtidos para as formulações F8c e F8d, F9c e F9d, F10a e F10b e F11a e F11b encontram-se na Tabela 21 e os obtidos para as formulações F9c, F9d, F8d, F10b, F11a e F11b após a adição da solução de NaOH (10%), encontram-se na Tabela 22

Tabela 21. Valores de pH das formulações desenvolvidas após o preparo.

Formulação	F8c	F8d	F9c	F9d	F10a	F10b	F11a	F11b
pH	5,45	4,6	4,95	4,65	5,33	4,73	4,6	5,04

Tabela 22. Valores de pH das formulações desenvolvidas após ajuste (solução de NaOH a 10%).

Formulação	F9c	F9d	F8d	F10b	F11a	F11b
pH	5,57	5,34	5,27	5,22	5,8	5,8

6.4. Testes preliminares de estabilidade

6.4.1. Análise do aspecto macroscópico e das características organolépticas

As formulações F11a e F11b mostraram-se estáveis frente a este teste, pois não foram observadas alterações do tipo: cor, odor, homogeneidade e separação de fases, após estocagem no ambiente, 4°C, 37°C e 45°C, durante o período de 28 dias.

6.4.2. Valor de pH

A média dos valores de pH das formulações F11a e F11b, em 24 horas e 28 dias, estão apresentados na Tabela 23 e Tabela 24, respectivamente, bem como o coeficiente de variação encontrado nesse período.

Tabela 23. Média (com desvio padrão) dos valores de pH da formulação F11a, 24 horas e após 28 dias de estocagem, nas temperaturas ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C, e coeficiente de variação entre esse período.

	24 horas	28 dias			
Formulação	F11a	F11a (Amb)	F11a (37)	F11a (45)	F11a (4)
Média do pH	5,85±0,02	5,35±0,01	5,07±0,02	4,85±0,01	5,6±0,01
Coeficiente de variação	---	5%	8%	10%	3%

Tabela 24. Média (com desvio padrão) dos valores de pH da formulação F11b, 24 horas e após 28 dias de estocagem, nas temperaturas ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C, e coeficiente de variação entre esse período.

	24 horas	28 dias			
Formulação	F11b	F11b (Amb)	F11b (37)	F11b (45)	F11b (4)
Média do pH	5,51±0,03	5,06±0,01	5,02±0,01	4,98±0,01	5,2±0,01
Coeficiente de variação	---	5%	5%	6%	3%

Observou-se que após o período de estocagem as formulações apresentaram uma redução nos valores de pH, quando comparados aos valores iniciais. Entretanto, esses valores não se mostraram fora da faixa de pH de estabilidade dos ingredientes ativos e bem como das demais matérias-primas.

Desse modo, as formulações F11a e F11b foram consideradas estáveis frente aos testes realizados nos estudos de estabilidade preliminar, sendo assim, prosseguiram para o estudo de estabilidade física por determinação do comportamento reológico.

6.5. Determinação do comportamento reológico

O modelo matemático adequado foi o modelo de Cross com a inclusão do termo *yield stress*, como mostra a Figura 2.

Figura 2. Aderência dos dados experimentais aos modelos matemáticos de Ostwald ($R^2=0,76565$; $RQMR=156,23507$; $\chi^2=9,1903$), Cross ($R^2=0,96778$; $RQMR=18,95041$; $\chi^2=1,26336$) e Cross com a inclusão do termo *yield stress* ($R^2=0,99854$; $RQMR=0,80028$; $\chi^2=0,05716$).

O modelo de Herschel-Bulkley aderiu aos dados experimentais com valores não físicos.

Para as amostras cujo ajuste resultou em valores inconsistentes (erro elevado ou valores negativos) estabeleceu-se um valor fixo para o parâmetro *yield stress* (σ_0) mantendo-se livres os demais parâmetros durante o ajuste.

O valor fixo de σ_0 foi determinado por meio de uma regressão linear entre a tensão e a taxa de cisalhamento dos dois primeiros valores experimentais.

A partir de um conjunto de dados ajustados livremente, observou-se a concordância entre o σ_0 e o valor obtido com a regressão, como mostra a Figura 3.

Figura 3. Ajuste linear entre a tensão e a taxa de cisalhamento dos dois primeiros valores experimentais em concordância com o ajuste da equação de Cross com a inclusão do *yield stress*.

De fato, quando $(K_{CR}\gamma)^n \ll 1$, a equação 4 torna-se,

$$\tau = \eta_0 \gamma + \sigma_0 \quad (6)$$

A Figura 3 mostra que η_0 assume os valores de $1,00 \pm 0,05$ e $1,03$ [Pa.s] e σ_0 $65,4 \pm 0,6$ e 65 [Pa] para o ajuste e a regressão, respectivamente.

As Figuras 4 (A, B, C, e D) e 5 (A, B, C, e D) mostram os reogramas obtidos para as formulações F11a e F11b, nos tempos T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} e nas temperaturas ambiente, 37°C , 45°C e 4°C .

Figura 4. Reogramas da F11a (formulação veículo) armazenada no (A) ambiente; (B) 37°C ; (C) 45°C e (D) 4°C , no período de 28 dias (T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28}).

Figura 5. Reogramas da F11b (formulação adicionada dos ingredientes ativos) armazenada no (A) ambiente; (B) 37°C; (C) 45°C e (D) 4°C, no período de 28 dias (T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28}).

No estudo da estabilidade, de acordo com a equação de Cross com a inclusão do termo *yield stress*, as formulações foram comparadas quanto à viscosidade inicial (η_0), viscosidade no infinito (η_∞), tempo de relaxação (K_{CR}), expoente adimensional (n) e *yield stress* (σ_0).

O resultado do teste estatístico referente à η_0 , encontra-se na Tabela 25 e Tabela 26, para F11a e F11b respectivamente.

Tabela 25. Teste de *Kruskal-Wallis* da viscosidade inicial (η_0) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈ das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância p<0,05.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T ₀	3	11	33	3,83333	4	0,42903
	T ₇	3	5,66667	17			
	T ₁₄	3	10	30			
	T ₂₁	3	8	24			
	T ₂₈	3	5,33333	16			
37°C	T ₀	3	14	42	8,94931	4	0,06238
	T ₇	3	7	21			
	T ₁₄	3	6,33333	19			
	T ₂₁	3	3,66667	11			
	T ₂₈	3	9	27			
45°C	T ₀	3	13,16667	39,5	7,8223	4	0,09831
	T ₇	3	3,66667	11			
	T ₁₄	3	6,16667	18,5			
	T ₂₁	3	7,33333	22			
	T ₂₈	3	9,66667	29			
4°C	T ₀	3	11	33	5,30113	4	0,25777
	T ₇	3	10,66667	32			
	T ₁₄	3	7,83333	23,5			
	T ₂₁	3	6,66667	20			
	T ₂₈	3	3,83333	11,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

Tabela 26. Teste de *Kruskal-Wallis* da viscosidade inicial (η_0) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈ das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância p<0,05.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T ₀	3	9	27	5,94624	4	0,2032
	T ₇	3	12,33333	37			
	T ₁₄	3	6,5	19,5			
	T ₂₁	3	8,33333	25			
	T ₂₈	3	3,83333	11,5			
37°C	T ₀	3	10	30	3,45803	4	0,48429
	T ₇	3	6,33333	19			
	T ₁₄	3	10,66667	32			
	T ₂₁	3	8	24			
	T ₂₈	3	5	15			
45°C	T ₀	3	10	30	3,68157	4	0,45081
	T ₇	3	5,83333	17,5			
	T ₁₄	3	4,83333	14,5			
	T ₂₁	3	9,33333	28			
	T ₂₈	3	10	30			
4°C	T ₀	3	8,66667	26	0,77639	4	0,94159
	T ₇	3	6,5	19,5			
	T ₁₄	3	7,66667	23			
	T ₂₁	3	7,66667	23			
	T ₂₈	3	9,5	28,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

Os valores de η_0 para as formulações F11a e F11b, foram estatisticamente iguais ($p < 0,05$) durante os 28 dias de estudos e em todas as temperaturas de armazenamento.

Na Figura 6 (A e B) encontram-se as variações sofridas por cada formulação no decorrer do estudo.

Figura 6. Viscosidade inicial (η_0) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.

A Tabela 27 mostra os resultados do teste estatístico do parâmetro η_∞ para a formulação F11a e a Tabela 28 para a formulação F11b.

Tabela 27. Teste de *Kruskal-Wallis* da viscosidade no infinito (η_{∞}) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈ das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância p<0,05.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T ₀	3	11	33	5,64516	4	0,22726
	T ₇	3	3,16667	9,5			
	T ₁₄	3	7	21			
	T ₂₁	3	9,66667	29			
	T ₂₈	3	9,16667	27,5			
37°C	T ₀	3	13	39	5,71688	4	0,22131
	T ₇	3	6,83333	20,5			
	T ₁₄	3	8,33333	25			
	T ₂₁	3	4,83333	14,5			
	T ₂₈	3	7	21			
*45°C	T ₀	3	7,66667	23	9,77136	4	0,04446
	T ₇	3	2,33333	7			
	T ₁₄	3	7	21			
	T ₂₁	3	9,66667	29			
	T ₂₈	3	13,33333	40			
4°C	T ₀	3	11	33	7,87868	4	0,09612
	T ₇	3	8,83333	26,5			
	T ₁₄	3	10,5	31,5			
	T ₂₁	3	2	6			
	T ₂₈	3	7,66667	23			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

*As populações são estatisticamente diferentes (p<0,05).

Tabela 28. Teste de *Kruskal-Wallis* da viscosidade no infinito (η_{∞}) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈ das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância p<0,05.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T ₀	3	9,16667	27,5	2,67746	4	0,61317
	T ₇	3	6,66667	20			
	T ₁₄	3	6,66667	20			
	T ₂₁	3	6,33333	19			
	T ₂₈	3	11,16667	33,5			
37°C	T ₀	3	12,16667	36,5	5,57952	4	0,23283
	T ₇	3	6,66667	20			
	T ₁₄	3	4,16667	12,5			
	T ₂₁	3	7,5	22,5			
	T ₂₈	3	9,5	28,5			
45°C	T ₀	3	5	15	8,28417	4	0,08171
	T ₇	3	3,16667	9,5			
	T ₁₄	3	9,66667	29			
	T ₂₁	3	11,66667	35			
	T ₂₈	3	10,5	31,5			
4°C	T ₀	3	9,83333	29,5	8,56115	4	0,07306
	T ₇	3	13	39			
	T ₁₄	3	6,83333	20,5			
	T ₂₁	3	2,83333	8,5			
	T ₂₈	3	7,5	22,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

A partir do teste estatístico realizado, observa-se que apenas a formulação F11a, quando submetida à temperatura de 45°C apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) nos valores da viscosidade no infinito.

A Figura 7 (A e B) mostra o comportamento das formulações F11a e F11b.

Figura 7. Viscosidade no infinito (η_{∞}) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.

Os resultados do K_{CR} estão apresentados na Tabela 29 para a formulação F11a e na Tabela 30 para a F11b.

Tabela 29. Teste de *Kruskal-Wallis* do tempo de relaxação (K_{CR}) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T_0	3	9,16667	27,5	3,08017	4	0,5445
	T_7	3	5,33333	16			
	T_{14}	3	11	33			
	T_{21}	3	8,16667	24,5			
	T_{28}	3	6,33333	19			
37°C	T_0	3	12,66667	38	6,81535	4	0,14597
	T_7	3	8,33333	25			
	T_{14}	3	7	21			
	T_{21}	3	3,33333	10			
	T_{28}	3	8,66667	26			
45°C	T_0	3	12,33333	37	7,47539	4	0,1128
	T_7	3	10,66667	32			
	T_{14}	3	7,5	22,5			
	T_{21}	3	4,33333	13			
	T_{28}	3	5,16667	15,5			
4°C	T_0	3	10	30	4,32378	4	0,36396
	T_7	3	9,83333	29,5			
	T_{14}	3	7,66667	23			
	T_{21}	3	9	27			
	T_{28}	3	3,5	10,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

Tabela 30. Teste de *Kruskal-Wallis* do tempo de relaxação (K_{CR}) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T_0	3	9	27	4,9278	4	0,29479
	T_7	3	11	33			
	T_{14}	3	5,5	16,5			
	T_{21}	3	10	30			
	T_{28}	3	4,5	13,5			
37°C	T_0	3	9,33333	28	5,03664	4	0,28356
	T_7	3	4,83333	14,5			
	T_{14}	3	12	36			
	T_{21}	3	8,16667	24,5			
	T_{28}	3	5,66667	17			
45°C	T_0	3	6,66667	20	4,34541	4	0,36127
	T_7	3	4,5	13,5			
	T_{14}	3	10,83333	32,5			
	T_{21}	3	10,5	31,5			
	T_{28}	3	7,5	22,5			
4°C	T_0	3	8	24	1,55556	4	0,81676
	T_7	3	5,66667	17			
	T_{14}	3	7,83333	23,5			
	T_{21}	3	8,33333	25			
	T_{28}	3	10,16667	30,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

Os valores do tempo de relaxação, não se mostraram diferentes estatisticamente para nenhuma das formulações estudadas.

As variações deste parâmetro, no período de 28 dias, estão apresentadas na Figura 8 (A e B).

Figura 8. Tempo de relaxação (K_{CR}) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.

Os resultados do teste estatístico realizado para n estão apresentados nas Tabelas 31 e 32, para as formulações F11a e F11b, respectivamente.

Tabela 31. Teste de *Kruskal-Wallis* do expoente adimensional (n) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈ das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T ₀	3	8,83333	26,5	3,44564	4	0,48619
	T ₇	3	6,5	19,5			
	T ₁₄	3	5,5	16,5			
	T ₂₁	3	7,5	22,5			
	T ₂₈	3	11,66667	35			
37°C	T ₀	3	12,66667	38	7,92659	4	0,0943
	T ₇	3	10	30			
	T ₁₄	3	8,16667	24,5			
	T ₂₁	3	3,33333	10			
	T ₂₈	3	5,83333	17,5			
*45°C	T ₀	3	13,66667	41	9,51832	4	0,04937
	T ₇	3	3,33333	10			
	T ₁₄	3	7	21			
	T ₂₁	3	6	18			
	T ₂₈	3	10	30			
4°C	T ₀	3	10,33333	31	6,26667	4	0,1801
	T ₇	3	3,66667	11			
	T ₁₄	3	8,33333	25			
	T ₂₁	3	6	18			
	T ₂₈	3	11,66667	35			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

*As populações são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabela 32. Teste de *Kruskal-Wallis* do expoente adimensional (n) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈ das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T ₀	3	7,33333	22	7,16908	4	0,12722
	T ₇	3	3,33333	10			
	T ₁₄	3	10,66667	32			
	T ₂₁	3	6,66667	20			
	T ₂₈	3	12	36			
37°C	T ₀	3	9,33333	28	3,27001	4	0,5137
	T ₇	3	10	30			
	T ₁₄	3	4,16667	12,5			
	T ₂₁	3	7,5	22,5			
	T ₂₈	3	9	27			
45°C	T ₀	3	9,66667	29	1,62963	4	0,80346
	T ₇	3	9	27			
	T ₁₄	3	8,33333	25			
	T ₂₁	3	7,33333	22			
	T ₂₈	3	5,66667	17			
4°C	T ₀	3	8	24	2,60959	4	0,62512
	T ₇	3	9,33333	28			
	T ₁₄	3	10,5	31,5			
	T ₂₁	3	7	21			
	T ₂₈	3	5,16667	15,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

A formulação veículo apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) no expoente adimensional ao ser armazenada em 45°C. Este resultado não foi observado para as demais temperaturas, bem como para a formulação F11b.

A Figura 9 (A e B) mostra as variações sofridas pelas formulações no período do estudo.

(A)

(B)

Figura 9. Expoente adimensional (n) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.

Os resultados referentes ao σ_0 estão apresentados nas Tabelas 33 e 34 para as formulações F11a e F11b, respectivamente.

Tabela 33. Teste de *Kruskal-Wallis* do *yield stress* (σ_0) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈ das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
*Amb	T ₀	3	2,66667	8	10,74925	4	0,02953
	T ₇	3	6,33333	19			
	T ₁₄	3	6,66667	20			
	T ₂₁	3	10,83333	32,5			
	T ₂₈	3	13,5	40,5			
37°C	T ₀	3	2	6	7,35379	4	0,11833
	T ₇	3	9,16667	27,5			
	T ₁₄	3	10	30			
	T ₂₁	3	10,66667	32			
	T ₂₈	3	8,16667	24,5			
*45°C	T ₀	3	2	6	10,60911	4	0,03133
	T ₇	3	12,33333	37			
	T ₁₄	3	11	33			
	T ₂₁	3	9	27			
	T ₂₈	3	5,66667	17			
4°C	T ₀	3	4,16667	12,5	7,02095	4	0,13479
	T ₇	3	5,16667	15,5			
	T ₁₄	3	8,83333	26,5			
	T ₂₁	3	9,16667	27,5			
	T ₂₈	3	12,66667	38			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

*As populações são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabela 34. Teste de *Kruskal-Wallis* do *yield stress* (σ_0) da formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Comparação entre T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈ das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb), 37°C, 45°C e 4°C. Nível de significância $p < 0,05$.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T ₀	3	6,5	19,5	5,56314	4	0,23424
	T ₇	3	3,5	10,5			
	T ₁₄	3	9,83333	29,5			
	T ₂₁	3	9	27			
	T ₂₈	3	11,16667	33,5			
37°C	T ₀	3	7,83333	23,5	2,11051	4	0,71544
	T ₇	3	11	33			
	T ₁₄	3	7,66667	23			
	T ₂₁	3	5,83333	17,5			
	T ₂₈	3	7,66667	23			
45°C	T ₀	3	9,5	28,5	7,23586	4	0,12394
	T ₇	3	12	36			
	T ₁₄	3	9,5	28,5			
	T ₂₁	3	5,66667	17			
	T ₂₈	3	3,33333	10			
4°C	T ₀	3	5,66667	17	1,52192	4	0,82275
	T ₇	3	8,66667	26			
	T ₁₄	3	9,66667	29			
	T ₂₁	3	8,83333	26,5			
	T ₂₈	3	7,16667	21,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

A formulação F11a mostrou resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$) ao ser mantida em temperatura ambiente e em 45°C. Dessa forma, foi realizado outro teste de *Kruskal-Wallis* para esta formulação, a partir de T₇, ou seja, excluindo-se os valores de T₀ (Tabela 35).

Os resultados da formulação F11b não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) nos valores de σ_0 .

Tabela 35. Teste de *Kruskal-Wallis* do *yield stress* (σ_0) da formulação veículo (F11a). Comparação entre T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈ das temperaturas de armazenamento ambiente (Amb) e 45°C. Nível de significância $p < 0,05$.

Temp.		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	χ^2	GL	Prob> χ^2
Amb	T ₇	3	3,66667	11	7,47585	3	0,05818
	T ₁₄	3	4	12			
	T ₂₁	3	7,83333	23,5			
	T ₂₈	3	10,5	31,5			
45°C	T ₇	3	9,33333	28	5,90307	3	0,11642
	T ₁₄	3	8	24			
	T ₂₁	3	6	18			
	T ₂₈	3	2,66667	8			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; GL: graus de liberdade; Prob> χ^2 : probabilidade de ser maior que χ^2 .

Os valores de *yield stress* não se mostraram estatisticamente diferentes ao serem analisados entre T_7 e T_{28} .

Na Figura 10 (A e B) encontram-se as variações sofridas por cada formulação no decorrer do estudo.

Figura 10. *Yield stress* (σ_0) das formulações (A) F11a e (B) F11b, em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , nas temperaturas de armazenamento ambiente, 37°C, 45°C e 4°C.

6.6. Avaliação primária da compatibilidade cutânea

No teste de compatibilidade cutânea, as formulações F11a e F11b, não induziram reação de irritação significativa, sendo a compatibilidade considerada como “muito boa” (ANEXO II).

6.7. Avaliação da comedogenicidade

O estudo de comedogenicidade mostrou que a formulação veículo (F11a) foi considerada como “não comedogênica” (ANEXO III).

6.8. Avaliação sensorial

As frequências absolutas e relativas obtidas da avaliação sensorial quanto às “características sensoriais” e os “efeitos na pele” estão apresentadas nas Tabelas 36 e 37, respectivamente.

Tabela 36. Frequências absoluta e relativa das “características sensoriais” da formulação F11b.

Características sensoriais	Frequência absoluta	Frequência relativa
Fácil de espalhar	19	90,5
Facilmente absorvida	12	57,1
Oleosa/gordurosa	7	33,3
Pegajosa	5	23,8
Suave	12	57,1

Tabela 37. Frequências absoluta e relativa dos “efeitos na pele” da formulação F11b.

Efeitos na pele	Frequência absoluta	Frequência relativa
Deixa a pele macia	15	71,4
Deixa resíduo oleoso	8	38,1
Deixa a pele hidratada	18	85,7

As frequências relativas relacionadas aos parâmetros “características sensoriais” estão apresentadas na Figura 11 e as frequências relativas relacionadas aos parâmetros “efeitos na pele” estão apresentadas na Figura 12.

Figura 11. Frequência relativa dos parâmetros relacionados às “características sensoriais”.

Figura 12. Frequência relativa dos parâmetros relacionados aos “efeitos na pele”.

De acordo com as frequências obtidas para os parâmetros relacionados às “características sensoriais”, nota-se que “fácil de espalhar”, “facilmente absorvida” e “suave”, apresentaram as frequências mais altas (90,5%, 57,1% e 57,1%, respectivamente). Enquanto que “oleosa/gordurosa” e “pegajosa” obtiveram as menores frequências.

Quanto aos “efeitos na pele”, o parâmetro “deixa resíduo oleoso” foi o que apresentou a menor frequência (38,1%), e os demais, “deixa a pele macia” e “deixa a pele hidratada”, mostraram frequências mais altas.

6.9. Avaliação da eficácia clínica da formulação objeto de estudo

6.9.1. Avaliação da eficácia por métodos de biofísica e análise de imagem

Dos 16 voluntários que se propuseram a participar, 15 completaram o estudo.

Os resultados do teste estatístico da avaliação do conteúdo aquoso do estrato córneo estão apresentados na Tabela 38.

Tabela 38. Teste de *Wilcoxon* do conteúdo aquoso do estrato córneo. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da frente média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.

Regiões		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	W	Z	Prob<W
FM	RP	8	6,25	50	70	0,5412	0,2941
	RN	7	10	70			
RM	RP	5	8	40	80	1,10909	0,1355
	RN	10	8	80			
QX	RP	7	8,57143	60	60	0	0,50537
	RN	8	7,5	60			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; RP: ranques positivos; RN: ranques negativos; W: estatística do teste; Z: y-x; Prob<W: probabilidade de ser menor que W.

Não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no conteúdo aquoso do estrato córneo em nenhuma das regiões estudadas (Figura 13).

Figura 13. Resultados da hidratação – Conteúdo aquoso do estrato córneo. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: frente média, RM: região malar e QX: queixo). Nível de significância $p < 0,05$.

Os resultados obtidos para a perda de água transepidérmica, estão apresentados na Tabela 39.

Tabela 39. Teste de *Wilcoxon* da perda de água transepidérmica. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da frente média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.

Regiões		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	W	Z	Prob<W
FM	RP	8	8	64	56	-0,19883	0,4173
	RN	7	8	56			
RM	RP	8	9,125	73	47	-0,7101	0,23978
	RN	7	6,71429	47			
QX	RP	7	6,5	45,5	74,5	0,79531	0,79349
	RN	8	9,3125	74,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; RP: ranques positivos; RN: ranques negativos; W: estatística do teste; Z: y-x; Prob<W: probabilidade de ser menor que W.

O teste estatístico mostrou que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de perda de água transepidérmica, após as seis semanas de uso da formulação (Figura 14).

Figura 14. Resultados da barreira cutânea – Perda de água transepidérmica. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: frente média, RM: região malar e QX: queixo). Nível de significância $p < 0,05$.

Em relação à quantidade de sebo presente na superfície da pele, a Tabela 40, mostra que não houve diferença estatisticamente significativa para este parâmetro ($p < 0,05$).

Tabela 40. Teste de *Wilcoxon* da quantidade de sebo. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da fronte média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.

Regiões		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	W	Z	Prob<W
FM	RP	7	9,85714	69	51	-0,48277	0,70026
	RN	8	6,375	51			
RM	RP	11	6,63636	73	47	-0,70995	0,77286
	RN	4	11,75	47			
QX	RP	8	8,75	70	50	-0,53956	0,7193
	RN	7	7,14286	50			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; RP: ranques positivos; RN: ranques negativos; W: estatística do teste; Z: y-x; Prob<W: probabilidade de ser menor que W.

Após seis semanas de uso da formulação não houve alterações significativas na quantidade de sebo (Figura 15).

Figura 15. Resultados da quantidade de sebo. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: fronte média, RM: região malar e QX: queixo). Nível de significância $p < 0,05$.

Os resultados do teste estatístico do pH da pele, então apresentados na Tabela 41.

Tabela 41. Teste de *Wilcoxon* do pH da pele. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da frente média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.

Regiões		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	W	Z	Prob<W
FM	RP	6	8,91667	53,5	37,5	-0,52462	0,7113
	RN	7	5,35714	37,5			
RM	RP	7	9,78571	68,5	51,5	-0,45455	0,6857
	RN	8	6,4375	51,5			
QX	RP	8	6,8125	54,5	36,5	-0,59658	0,73389
	RN	5	7,3	36,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; RP: ranques positivos; RN: ranques negativos; W: estatística do teste; Z: $y-x$; Prob<W: probabilidade de ser menor que W.

O pH da pele não apresentou alterações significativas após seis semanas de uso da formulação (Figura 16).

Figura 16. Resultados do pH da pele. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: frente média, RM: região malar e QX: queixo). Nível de significância $p < 0,05$.

O teste estatístico relacionado à contagem de porfirinas (Tabela 42) mostrou que houve diferença estatisticamente significativa entre os valores basais e após o tratamento, nas três regiões de estudo ($p < 0,05$).

Tabela 42. Teste de *Wilcoxon* da contagem de porfirinas. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Medidas da frente média (FM), região malar (RM) e queixo (QX). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.

Regiões		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	W	Z	Prob<W
*FM	RP	3	4,83333	14,5	90,5	2,3576	0,00708
	RN	11	8,22727	90,5			
*RM	RP	5	6,1	30,5	89,5	1,64809	0,04865
	RN	10	8,95	89,5			
*QX	RP	3	8,5	25,5	94,5	1,93263	0,02487
	RN	12	7,875	94,5			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; RP: ranques positivos; RN: ranques negativos; W: estatística do teste; Z: $y-x$; Prob<W: probabilidade de ser menor que W.

* Contagem de porfirinas antes tende a ser significativamente maior que a contagem de porfirinas após o uso da formulação.

As Figuras 17 e 18 (A, B e C) a redução da quantidade de porfirinas após seis semanas de uso da formulação.

Figura 17. Resultados da contagem de porfirinas. Comparação entre os valores basais (T_0) e após seis semanas (T_{42}) de uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: frente média, RM: região malar e QX: queixo). *Significativamente menor em relação aos valores basais ($p < 0,05$).

Figura 18. Quantidade de porfirinas, representada pelos pontos fluorescentes de coloração vermelho-laranja antes (T_0) e após seis semanas (T_{42}) o uso da formulação (F11b) nas regiões de estudo (FM: fronte média, RM: região malar e QX: queixo).

A Tabela 43 mostra os resultados do teste estatístico para a contagem de microcomedões.

Tabela 43. Teste de *Wilcoxon* da contagem de microcomedões. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Contagem da região malar (RM). Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.

Regiões		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	W	Z	Prob<W
RM	RP	7	5,71429	40	80	1,10797	0,1351
	RN	8	10	80			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; RP: ranques positivos; RN: ranques negativos; W: estatística do teste; Z: y-x; Prob<W: probabilidade de ser menor que W.

A quantidade de microcomedões não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), após o uso da formulação (Figura 19).

Figura 19. Resultados da contagem de microcomedões. Comparação entre os valores basais (T₀) e após seis semanas (T₄₂) de uso da formulação (F11b) para cada voluntário (V). RM: região malar.

O teste estatístico relacionado à contagem das lesões inflamatórias (Tabela 44) mostrou que houve diferença estatisticamente significativa entre os valores basais e após o tratamento ($p < 0,05$).

Tabela 44. Teste de *Wilcoxon* da contagem de lesões acneicas inflamatórias. Formulação acrescida dos ingredientes ativos (F11b). Contagem de toda a face. Comparação entre valores basais e após seis semanas de uso da formulação. Nível de significância $p < 0,05$.

Região		Ranques			Estatística do Teste		
		N	RM	SR	W	Z	Prob<W
*FACE	RP	2	7,5	15	105	2,5413	0,00354
	RN	13	8,07692	105			

Abreviações - N: quantidade de amostras; RM: ranque das médias; SR: soma dos ranques; RP: ranques positivos; RN: ranques negativos; W: estatística do teste; Z: y-x; Prob<W: probabilidade de ser menor que W.

* Quantidade de lesões inflamatórias antes tende a ser significativamente maior que a quantidade de lesões inflamatórias após o uso da formulação.

A Figura 20 mostra uma comparação dos resultados, de cada voluntário, antes e após o uso da formulação. É possível observar que apenas dois voluntários apresentaram um aumento na contagem das lesões inflamatórias.

A média de redução das lesões foi de 60% (sem contar os voluntários que

apresentaram aumento na sua contagem), sendo que os voluntários 10 e 15 apresentaram uma expressiva diminuição, 13 lesões reduzidas e 100% de eficácia, respectivamente.

Figura 20. Resultados da contagem das lesões inflamatórias. Comparação entre os valores basais (T₀) e após seis semanas (T₄₂) de uso da formulação (F11b) na face de cada voluntário (V). As setas indicam os voluntários que apresentaram a melhor eficácia clínica; ♦ Voluntários que apresentaram aumento na contagem das lesões inflamatórias; *Não foram considerados os voluntários que apresentaram aumento na contagem de lesões.

A Figura 21 (A e B) mostra a redução das lesões inflamatórias.

Figura 21. Fotografia de alta resolução da face (A) antes e (B) depois do uso da formulação. As setas indicam as lesões inflamatórias.

6.9.2. Avaliação da eficácia pela percepção

A Figura 22 mostra as frequências absolutas de cada parâmetro, antes e após o tratamento.

Figura 22. Frequências absolutas do parâmetro “observou”: cravos brancos, cravos pretos, espinhas e espinhas internas (*Número de voluntários que observaram a redução nos parâmetros).

Na Figura 23 estão apresentadas as frequências absolutas dos parâmetros, após o uso da formulação.

Figura 23. Frequências absolutas do parâmetro “sentiu” a pele: mais macia, mais hidratada, mais lisa/homogênea, menos oleosa.

De acordo com a Figura 22, nota-se que todos os voluntários consideraram que a formulação foi eficaz na redução das “espinhas” e que 9, de 10 voluntários, observaram melhora nas “espinhas internas”. Em relação aos “cravos” brancos e pretos, pouco menos da metade dos voluntários, notaram melhora.

A Figura 23 mostra que 13, dos 15 voluntários participantes do estudo, consideraram que a formulação mostrou-se eficaz na redução da oleosidade. Em relação à maciez, hidratação e homogeneidade/lisura da pele mais da metade dos voluntários consideraram que a formulação foi eficaz nesses parâmetros.

7. Discussão

O desenvolvimento de formulações cosméticas é um processo complexo em que é necessário o conhecimento da morfologia e fisiologia da pele, além das matérias-primas as quais se pretende utilizar, pois a interação entre o produto cosmético e o sistema biológico está diretamente relacionada à segurança e eficácia do mesmo.

Para que o produto seja eficaz e atenda as reais necessidades da pele, é fundamental uma pesquisa minuciosa, não somente dos ingredientes ativos, que são os principais responsáveis pelos efeitos desejados, mas também dos demais componentes da formulação, os quais irão compor o veículo para esses ativos.

Dessa forma, é necessário levar em consideração as propriedades e a função das matérias-primas a serem utilizadas como veículo, bem como os possíveis efeitos da interação entre elas, para que estas sejam selecionadas de forma adequada, tendo em vista a natureza dos ingredientes ativos e a complexidade de determinadas associações entre eles, o que reflete na estabilidade do produto final.

Tendo a pele acnéica como alvo da aplicação das formulações objeto de estudo e as diferenças físico-químicas dos ingredientes ativos, foi necessária uma pesquisa detalhada e escolha criteriosa de tais matérias-primas, para que além de estabilidade, segurança e eficácia as formulações também apresentassem sensorial agradável, considerando sua influência na aceitação do produto (WORTEL; WIECHERS, 2000; TACHINARDI et al., 2005).

O desenvolvimento é uma etapa dispendiosa, não somente em função dos ingredientes ativos que podem levar à instabilidade da formulação, mas, principalmente, porque eles devem apresentar concentrações que se adequem as diferenças individuais.

Em função dos ingredientes ativos serem de caráter hidrofílico (*Zinc PCA* e *Niacinamide*) e lipofílico (*Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate*), optou-se pela elaboração de emulsões, pois este tipo de forma cosmética permite a utilização concomitante de substâncias de naturezas diferentes.

A etapa 1 do desenvolvimento consistiu na seleção de polímeros hidrofílicos, os quais atuam como agentes de consistência e são uma parte importante da formulação cosmética, pois além de regular a viscosidade do produto, melhoram as propriedades reológicas, toque, fluxo e, ainda, tem a função de formar filme e de estabilizar emulsões óleo-em-água (AKIYAMA et al., 2005; KARSHEVA et al., 2007).

Nessa etapa, o principal fator considerado foi a compatibilidade de tais ingredientes com o *Zinc PCA*, visto que muitos hidrogéis são sensíveis às diferentes condições do meio, as quais incluem a presença de íons (KUNDU et al., 2009).

Assim, foram selecionados o polímero hidrofílico não iônico *Hydroxypropyl Starch Phosphate* (AKZONOBEL, 2008) e os aniônicos *Xanthan Gum*, que embora possua esse caráter, é conhecida por apresentar elevada tolerância a sais, além de alta estabilidade em relação a extremos de temperatura, pH e força iônica (SYMES, 1980; SAHA; BHATTACHARYA, 2010) e o *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*, que segundo a literatura técnica do fabricante, é indicado para estabilizar formulações que contém eletrólitos, sendo o ideal para uso em formulações contendo PCA sódico (LUBRIZOL, 2006).

Foram, então, elaboradas formulações “teste” com os polímeros hidrofílicos citados anteriormente, adicionando-se *Zinc PCA* ou não, para que fosse possível comparar alterações na consistência frente à presença do mesmo e observou-se que apenas o polímero *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer* teve sua consistência alterada pela presença do *Zinc PCA*, isto é, após a neutralização, não adquiriu consistência como a formulação veículo.

Tal resultado pode ser devido ao fato desse polímero conter grupos ácidos na sua cadeia e o aumento de viscosidade e transparência ser devido à neutralização desses grupos, a qual provoca a expansão da cadeia do polímero em função da repulsão eletrostática gerada pela ionização. Assim, a adição de sais reduz a repulsão eletrostática entre as cargas existentes no polímero, limitando a expansão da macromolécula, o que leva à diminuição da viscosidade (DUARTE, 2011).

Dando continuidade aos estudos, foi realizada a etapa 2, ou seja, a escolha do sistema emulsionante. Nesta etapa também foi avaliada a compatibilidade dos polímeros emulsionantes ou dos emulsionantes com o *Zinc PCA*.

As matérias-primas de primeira escolha como sistemas emulsionantes foram os polímeros emulsionantes por possuírem baixo conteúdo de ingredientes graxos.

Os polímeros emulsionantes aniônicos *Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60* e *Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside*, foram selecionados com base na maior tolerância a eletrólitos (GARCEL et al., 2010; LUBRIZOL, 2011), porém quando os referidos polímeros foram acrescidos de *Zinc PCA* ocorreu a diminuição da consistência da formulação final.

Considerando que ambos os polímeros emulsionantes utilizados na etapa 2 são emulsões inversas pré-neutralizadas e possuem como mecanismo de geleificação a repulsão eletrostática (GARCEL et al., 2010; LUBRIZOL, 2011) a perda de viscosidade observada provavelmente ocorreu pela diminuição da repulsão eletrostática, da mesma forma como

ocorreu com o polímero *Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer*, após a adição do *Zinc PCA*.

Depois de realizadas a etapa 1 e a etapa 2 com os polímeros emulsionantes, foram elaboradas as combinações dos polímeros hidrofílicos com os polímeros emulsionantes, correspondentes à etapa 3.

Embora os polímeros emulsionantes tenham mostrado perda na consistência frente a adição de *Zinc PCA*, eles prosseguiram para a etapa 3, pois levou-se em consideração os efeitos da interação entre eles com os polímeros hidrofílicos e os demais componentes da formulação no aumento da estabilidade.

Como proposto pelo fabricante do polímero emulsionante *Sodium Acrylates/Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside*, a combinação com polímeros hidrofílicos ou co-emulsionantes podem aumentar a estabilidade de formulações que contém eletrólitos (LUBRIZOL, 2011). Dessa forma, essas combinações foram realizadas com esse polímero emulsionante e com o *Hydroxyethyl Acrylate and Sodium Acryloyldimethyl Taurate Copolymer and Isohexadecane and Polysorbate 60*, nas formulações F1a, F1b, F1c, F1d; F2a, F2b; F3a, F3b, F3c, F3d; F4a, F4b e F5a, F5b, F5c, F5d.

Contudo, essas formulações, em todas as concentrações testadas, não se mostraram mais estáveis na presença de *Zinc PCA*, apresentando perda imediata da consistência à adição deste ingrediente ativo e com isso, essas formulações não prosseguiram para o teste de centrifugação.

Considerando os resultados obtidos com as formulações elaboradas anteriormente, foi realizada uma nova pesquisa na literatura técnica, com a finalidade de encontrar matérias-primas para compor a etapa 2 e, assim, prosseguir com os estudos de desenvolvimento e estabilidade das formulações.

Dessa forma, foram feitas formulações “teste” com os emulsionantes não iônicos *Tribehenin PEG-20 Esters* e *Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate* (GATTEFOSSÉ, 2012), os quais se mantiveram consistentes na presença do *Zinc PCA*. De acordo com Iwata e Shimada (2012) tensoativos não iônicos, os quais não formam pontes iônicas, são menos sensíveis a sais em comparação com os tensoativos iônicos.

Dando continuidade, realizou-se a etapa 3 associando polímeros hidrofílicos com os emulsionantes anteriormente testados.

As formulações em que os polímeros hidrofílicos *Xanthan Gum* e *Hydroxypropyl Starch Phosphate* foram associados ao *Glyceryl Stearate (and) PEG-75*, não apresentaram

alteração na consistência na presença de nenhum dos ingredientes ativos, em qualquer concentração utilizada, sendo assim foi realizado o teste de centrifugação com essas formulações.

Considerando os resultados obtidos no teste de centrifugação das formulações anteriores, decidiu-se realizar a etapa 1 novamente com o polímero hidrofílico não iônico *Hydroxyethylcellulose* (AQUALON, 1999), o qual é compatível com uma grande variedade de agentes tensoativos e sais (KIRK-OTHEMER, 2006) e com uma goma xantana proveniente de outro fabricante, a *Xanthan gum Keltrol*.

Essas formulações “testes” não apresentaram alteração na consistência com o *Zinc PCA*.

Dessa forma, prosseguiu-se com esses polímeros para a etapa 3, em que foram feitas as combinações do emulsionante *Tribehenin PEG-20 Esters* com os polímeros hidrofílicos *Xanthan Gum*, *Hydroxypropyl Starch Phosphate*, *Hydroxyethylcellulose* e *Xanthan gum Keltrol*.

Todas as combinações, em qualquer uma das concentrações testada, mantiveram a consistência após a adição do *Zinc PCA*, bem como dos demais ingredientes ativos, quando comparadas às formulações veículos e com isso, essas formulações também prosseguiram para o teste de centrifugação.

Após 24 horas do seu desenvolvimento, as formulações F6a, F6b, F6c e F6d; F7a, F7b, F7c e F7d; F8a, F8b, F8c e F8d; F9a, F9b, F9c e F9d, F10a e F10b e F11a e F11b foram submetidas ao teste de centrifugação. De acordo com o Guia de Estabilidade da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004), esse teste produz estresse na amostra simulando um aumento na força de gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis instabilidades, sendo importante para pesquisar alterações na estrutura da formulação que nem sempre são perceptíveis visualmente.

As formulações F8c e F8d; F9c e F9d; F10a e F10b e F11a e F11b não apresentaram separação de fases frente a este teste, sendo, portanto, submetidas à avaliação de pH.

As formulações estudadas apresentaram valores de pH na faixa de 4,6-5,45 e após o ajuste apresentaram valores na faixa de 5,22 a 5,8, sendo compatíveis com a faixa de pH de estabilidade das matérias-primas e dos ingredientes ativos.

Após a definição dos ingredientes que farão parte do veículo e realizado o teste de centrifugação e determinação do pH, considerando que a goma xantana (INCI: *Xanthan gum*), apesar de apresentar a mesma nomenclatura INCI, é disponível no mercado com diferentes procedências e custos, a seleção foi feita com base nos estudos relatados na literatura e

aplicação na indústria farmacêutica e cosmética. Dessa forma, somente a *Xantham gum Keltrol*, prosseguiu nos estudos.

As formulações foram, então, submetidas aos testes preliminares de estabilidade, visto que o referido teste é empregado na fase inicial do desenvolvimento do produto, objetivando auxiliar e orientar na escolha das formulações (BRASIL, 2004). As formulações F11a e F11b foram as únicas formulações que se mostraram estáveis frente à avaliação das características macroscópicas e organolépticas, pois não foram observadas alterações do tipo: cor, odor, homogeneidade e separação de fases, após estocagem no ambiente ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$), $37(\pm 1)$, $45(\pm 1)$ e $4(\pm 1)^{\circ}\text{C}$, durante o período de 28 dias.

Além da análise macroscópica e das características organolépticas, foi realizado também a medida do pH após os 28 dias de estocagem nas temperaturas ambiente ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$), $37(\pm 1)$, $45(\pm 1)$ e $4(\pm 1)^{\circ}\text{C}$, uma vez que seu valor deve ser considerado para assegurar a compatibilidade entre as matérias-primas que serão utilizadas como veículo e os ingredientes ativos, e ainda, compatíveis com o manto ácido da pele. Além disso, o valor de pH é um fator crítico na estabilidade de vitaminas, bem como na de seus derivados (GONÇALVES; MAIA CAMPOS, 2009).

Observou-se que após o período de estocagem nas temperaturas ambiente ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$), $37(\pm 1)$, $45(\pm 1)$ e $4(\pm 1)^{\circ}\text{C}$, durante 28 dias, todas as formulações apresentaram uma redução nos valores de pH, encontrando-se em uma faixa de 4,85-5,6, quando comparados aos valores iniciais. Entretanto, esses valores não se mostraram fora da faixa de pH de estabilidade dos ingredientes ativos, das demais matérias-primas, bem como do pH cutâneo.

Ainda em relação à estabilidade das formulações desenvolvidas, foi realizado o estudo da estabilidade física por meio do comportamento reológico.

As formulações foram novamente submetidas a diferentes temperaturas de armazenamento, uma vez que, medidas reológicas como uma função da temperatura, são essenciais para a obtenção de informações acerca da estabilidade física e da consistência do produto (TADROS, 2004).

Embora os fluidos pseudoplásticos, que caracterizam a grande maioria dos produtos cosméticos na forma emulsão, vem sendo avaliados pela lei de Ostwald, neste estudo, para a interpretação e conclusão dos resultados as curvas de fluxo foram testadas em quatro modelos matemáticos (Ostwald, Herschel-Bulkley, Cross e Cross com a inclusão do termo *yield stress*) para descrever o comportamento de fluxo. Observou-se que, a partir dos critérios adotados como aceitáveis, os dados aderiram melhor à equação de Cross com a inclusão do termo *yield stress*.

Esse resultado foi similar ao encontrado por Moser et al. (2013), que utilizaram em seu

estudo reológico soluções de goma guar e poli álcoois (manitol, sorbitol e xilitol). Os autores observaram que as curvas de fluxo das soluções que continham uma determinada concentração de goma guar (0,5 e 1g/100g de água) acrescidas ou não dos poli álcoois, não aderiram adequadamente ao modelo de Cross, como a solução com menor concentração de goma guar e sem poli álcoois, passando a aderir ao modelo de Cross com a inclusão do termo *yield stress*.

A equação de Cross modificada pela adição do termo *yield stress*, foi proposta por Rayment et al. (1995) que estudou o efeito da inclusão de partículas de amido de arroz, em soluções de goma guar em água. Segundo os autores, há evidências de um *yield stress* aparente associado com a inclusão de materiais particulados e, dessa forma, o tipo de comportamento reológico apresentado, pode ser descrito mais facilmente com a inclusão de tal termo na equação.

De acordo com Cross (1964), a equação por ele deduzida é utilizada para descrever o comportamento de fluxo pseudoplástico, ou seja, fluidos que apresentam uma diminuição na viscosidade aparente, com o aumento da taxa de cisalhamento.

Este comportamento é geralmente encontrado em dispersões de polímeros e emulsões e ele se deve à orientação das moléculas no sentido do fluxo e à ruptura das ligações estruturais, o que faz com que haja uma diminuição da resistência ao movimento (CHABBRA, 2010).

Contudo, muitas dessas dispersões, em um primeiro momento, podem apresentar certa resistência ao fluxo, o *yield stress*, o que significa que, só começarão a fluir até que a tensão aplicada exceda um valor crítico (LARSON, 1999).

Assim, os reogramas obtidos sugerem que as formulações do presente estudo (F11a e F11b) possuem comportamento de fluxo pseudoplástico e apresentam *yield stress*.

Para a avaliação da estabilidade das formulações frente ao estresse térmico, os valores obtidos em T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28} , para os parâmetros viscosidade inicial (η_0), viscosidade no infinito (η_∞), tempo de relaxação (K_{CR}), expoente adimensional (n) e *yield stress* (σ_0), conforme a equação 4, foram comparados utilizando o teste estatístico *Kruskal-Wallis*.

A formulação veículo, F11a, apresentou diferença estatisticamente significativa para o parâmetro σ_0 quando armazenada nas temperaturas ambiente ($25\pm 5^\circ\text{C}$) e $45\pm 1^\circ\text{C}$ e para os parâmetros η_∞ e n quando submetidas a $45\pm 1^\circ\text{C}$.

Ao se analisar os valores de σ_0 , notou-se que o aumento significativo ($p<0,05$) ocorreu entre os valores de T_0 e T_7 , sendo que a partir deste período, ou seja, entre T_7 e T_{28} tal aumento não foi mais observado tanto no veículo mantido na temperatura ambiente quanto em

45°C.

Diante disso, é possível que o resultado obtido seja um indicativo do processo de maturação da formulação, uma vez que algumas emulsões necessitam de um tempo finito após seu preparo até atingirem o estado de repouso, o qual segundo Brummer (2006) pode ser detectado por meio do valor do *yield stress*.

Embora as formulações armazenadas em 37±1°C e em 4±1°C não tenham apresentado diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) para o σ_0 , seus valores oscilaram no mesmo período em que foram observadas as mudanças nas formulações mantidas no ambiente e em 45°C, mostrando coerência com o referido processo de maturação.

Foram observadas também alterações nos parâmetros η_∞ e n , ao submeter os veículos a 45±1°C, no período de 28 dias.

A viscosidade no infinito (η_∞) é a viscosidade a uma taxa de cisalhamento muito grande e o expoente adimensional (n) pode ser considerado como um índice do comportamento, o índice de pseudoplasticidade do material, o qual representa a curvatura (MARSICH et al., 2013).

Considerando a interação existente entre cada um dos parâmetros, a diferença significativa ($p < 0,05$) encontrada nos valores da viscosidade no infinito (η_∞) e no expoente adimensional (n), pode ter sido uma consequência da alteração do tempo de relaxação (K_{CR}).

O K_{CR} mostra a taxa de cisalhamento a partir da qual se inicia o comportamento pseudoplástico do material (CRESPO et al., 2013). Tendo esse parâmetro diminuído (mesmo que não significativamente) ao expor a formulação à temperatura de 45°C, houve um deslocamento da curva e consequentemente sua curvatura (relacionado ao n) para a direita, resultando em alterações nos valores medidos do expoente adimensional.

Entretanto, dentro do conjunto de dados do presente estudo não foi possível observar de forma clara tal deslocamento da curva, uma vez que no estudo reológico a taxa de cisalhamento variou de 0 a 120 sec⁻¹. Dessa maneira, foi realizada uma extrapolação da curva, onde foi, então, observado o deslocamento anteriormente mencionado (Apêndice I).

A diferença estatisticamente significativa encontrada para η_∞ , pode também ser atribuída às alterações no K_{CR} e, ainda, deve-se considerar, as mudanças dos valores de n . Contudo, não é possível afirmar que esta diferença irá permanecer, visto que, a quantidade de dados, da mesma forma como observado acima, foi um fator limitante. Isto significa que em um conjunto maior de dados, a viscosidade no infinito pode não apresentar diferença estatística, como pode ser visto no Apêndice I.

Apesar das variações encontradas nos valores de n e η_{∞} , o deslocamento da curva em função da alteração do tempo de relaxação não foi expressivo, visto que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) ao se realizar a estatística desses dados.

Além disso, não houve alterações significativas na viscosidade inicial (η_0), considerando que diminuição da viscosidade de uma emulsão, pode ser um indicativo de coalescência das gotículas do sistema (TADROS, 2004).

Assim, nas condições experimentais em que este trabalho foi realizado, a formulação F10a foi considerada estável frente ao estudo reológico.

Em relação à formulação adicionada dos ingredientes ativos, F11b, não houve mudanças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) para nenhum dos parâmetros analisados o que também indica que, nas condições deste estudo, a formulação é fisicamente estável.

As alterações significativas observadas somente para a F11a podem ter relação com diferença na composição entre ela e a F11b, visto que esta última foi acrescida dos ingredientes ativos, uma vez que, alguns trabalhos na literatura mostram que a composição, a concentração e a proporção dos ingredientes podem interferir nas características reológicas (ARANSIBIA et al., 2011; LUKIC et al., 2013; SOULIÈS et al., 2013; MARSICH et al., 2013; YIN et al., 2013).

Em síntese, por meio do estudo reológico a avaliação da estabilidade física das formulações pôde ser avaliada. O modelo matemático empregado aos dados possibilitou a interpretação e conclusão dos resultados mostrando que as formulações desenvolvidas foram estáveis e compatíveis às finalidades propostas.

Após os estudos de estabilidade, as formulações foram avaliadas quanto à sua segurança por meio do teste de compatibilidade cutânea, tendo em vista que tais ensaios objetivam a comprovação da inocuidade de produtos na pele humana (BRASIL, 2004). No referido teste, a compatibilidade cutânea da formulação veículo bem como da formulação adicionada dos ingredientes ativos foi considerada “muito boa”.

Muitas são as matérias-primas disponíveis para a formulação de produtos para o tratamento da acne, no entanto, como abordado no início desta discussão, a escolha de uma formulação veículo adequada é fundamental para o sucesso do tratamento.

Neste sentido, embora o desenvolvimento da formulação tenha sido realizado de forma criteriosa e com o balanço adequado entre os ingredientes, é importante a realização do teste de comedogenicidade do veículo para que o mesmo não promova a formação de comedões e, portanto, não interfira na eficácia dos ingredientes ativos. O resultado do teste de comedogenicidade mostrou que a formulação desenvolvida é compatível com a pele acneica, pois ela não apresentou potencial comedogênico.

Dando continuidade aos estudos propostos, antes do estudo da eficácia clínica, foi realizada a avaliação sensorial, considerando que o sensorial de um produto interfere na adesão do tratamento (GOMES et al., 1998).

O teste foi feito por meio do questionário “check-all-that-apply” (CATA), o qual é indicado para um painel não treinado.

Segundo Adams (2007), os parâmetros que apresentaram as maiores frequências são considerados pelos participantes como os mais adequados para descrever o produto.

Para a maioria dos participantes as características sensoriais “oleosa/gordurosa” e “pegajosa” e o efeito na pele “deixa resíduo oleoso”, não foram os adequados para descreverem o produto, visto que esses parâmetros apresentaram baixas frequências.

Tal resultado foi satisfatório, considerando que a sensação de pegajosidade não é desejada em produtos cosméticos. Além disso, uma vez que o alvo de aplicação da formulação do presente estudo é a pele com acne, as baixas frequências encontradas para “oleosa/gordurosa” e “deixa resíduo oleoso” podem indicar que a formulação terá maior aceitação pelo consumidor que possui este tipo de pele.

Em relação aos parâmetros relacionados às características sensoriais, “fácil de espalhar”, “facilmente absorvida” e “suave” e os efeitos “deixa a pele macia” e “deixa a pele hidratada”, foram considerados, por pelo menos 57,1% dos participantes, como ideais para descreverem o produto.

Assim, os resultados obtidos na avaliação sensorial indicaram que a formulação proposta no presente estudo terá boa aceitação pelo seu público alvo.

A etapa seguinte foi desafiadora, uma vez que, diferentemente dos outros tipos de avaliações de eficácia, como para produtos com finalidades antienvelhecimento e hidratante, o painel de voluntários tratava-se de um grupo muito específico, considerando que os critérios de recrutamento foram feitos com base no âmbito da cosmetologia, com a finalidade de controle da oleosidade e da acne. Dessa forma, os voluntários deveriam apresentar um grau específico de acne (comedoniana ou inflamatória leve) e ainda não estarem em tratamento ou utilizando algum outro produto com tal finalidade.

O protocolo de estudos foi realizado com rigor técnico-científico, uma vez que, dentre outros, houve a padronização da quantidade de formulação utilizada, com o intuito de minimizar os possíveis erros experimentais, garantindo a aplicação da mesma quantidade do produto para todos os voluntários.

A avaliação da eficácia clínica da formulação foi realizada por meio da determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidérmica, da quantificação do

conteúdo lipídico, do pH cutâneo, da contagem de porfirinas, de microcomedões e das lesões inflamatórias (pápulas, pústulas e lesões escoriadas).

As medidas instrumentais foram realizadas na frente, região malar e queixo, antes e após o período de seis semanas de uso da formulação para que fosse possível comparar as alterações na pele provocadas pelo produto. Tais regiões foram escolhidas com base em artigos da literatura (PIPPE et al., 2009; BERTENJEV et al., 2011). A contagem dos microcomedões foi realizada somente na região malar, tendo em vista que a aquisição de imagens nas outras duas regiões, mostrou-se difícil, o que poderia resultar em imagens ruins e comprometer a análise dos resultados.

Parâmetros relacionados à hidratação e à função barreira da pele foram avaliados por meio da determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo e da perda de água transepidérmica, uma vez que a água é essencial para o funcionamento normal da pele.

A água presente no estrato córneo participa de processos enzimáticos necessários para a descamação normal. Caso seu conteúdo desça abaixo de um nível crítico, essas funções são prejudicadas, levando à adesão dos corneócitos e seu acúmulo na superfície cutânea (VERDIER-SÉVRAIN; BONTÉ, 2007).

A perda de água transepidérmica é um processo fisiológico, em que a água presente nas camadas mais profundas é difundida para o estrato córneo, sendo que parte dela evapora em sua superfície e a outra parte fica retida. A função de permeabilidade é mediada pelos lipídeos intercelulares e danos na barreira cutânea implicam em um aumento da evaporação (VERDIER-SÉVRAIN; BONTÉ, 2007).

Os resultados obtidos para o conteúdo aquoso do estrato córneo, bem como para a perda de água transepidérmica mostraram que não houve diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) antes e depois do uso da formulação em nenhuma das regiões estudadas.

Tal resultado foi satisfatório, uma vez que, Teixeira et al. (2013) em um estudo de avaliação da eficácia do *Zinc PCA* em gel hidrofílico, observaram aumento significativo da perda de água transepidérmica após uma semana de uso do produto. Dessa forma, o resultado do presente estudo indica que a formulação não interferiu significativamente na função barreira da pele.

O estudo relacionado à quantificação do conteúdo lipídico mostrou que a quantidade de sebo da superfície não alterou de forma significativa ($p < 0,05$).

Tal resultado pode ter ocorrido, em função do princípio que a técnica utiliza, uma vez que, de acordo com Pierard-Franchimont et al. (1999), o *Sebumeter*[®] *SM 815* coleta todo o

sebo presente no estrato córneo, incluindo o reservatório folicular e a superfície interfolicular.

Neste sentido, o valor de sebo obtido referente ao *Sebumeter*[®] SM 815, pode ter sido proveniente dos componentes oleosos da formulação retida no estrato córneo.

Mercúrio (2012) observou um aumento significativo na quantidade de sebo após 28 dias do uso de um fotoprotetor, composto por filtros lipofílicos e emolientes.

Em um estudo desenvolvido por Teixeira et al. (2013), o *Zinc PCA*, na concentração 1%, mostrou-se eficaz na redução do sebo, quando avaliado pelo equipamento *Sebumeter*[®] SM 815, no entanto o veículo utilizado no referido estudo foi um gel hidrofílico, o qual não proporciona um aumento na quantidade de lipídeos da pele.

Os valores do pH cutâneo não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) com o uso da formulação. No entanto, os valores de pH das regiões de estudo foram levemente ácidos, e dentro da faixa de valores considerados fisiológicos, que de acordo com a literatura pode variar de 4,0-7,0 (LAMBERS et al., 2006).

A contagem de porfirinas mostrou significativa redução ($p < 0,05$) após o período de seis semanas da aplicação da formulação.

Borelli et al. (2006) observaram que seus pacientes, após dois meses de terapia com isotretinoína, apresentaram melhora clínica da acne associada a uma significativa redução na concentração de porfirinas e que tal redução implicou na diminuição do *P. acnes*.

Segundo Dobrev (2010), os mecanismos pelos quais a fluorescência das porfirinas pode ser reduzida envolvem: morte do *P. acnes*, a supressão da produção da porfirina pela possível redução de mediadores intracelulares, destruição das porfirinas presentes no folículo e uma consequente redução do *P. acnes* devido à redução da secreção de sebo e normalização da queratinização no folículo.

Um estudo realizado com a aplicação tópica de outro derivado do zinco mostrou sua atuação na redução do *P. acnes* no infundíbulo das glândulas sebáceas, e quando associado ao antibiótico eritromicina mostrou-se eficaz no aumento da atividade bactericida (FLUHR et al., 1999).

Dessa maneira, de acordo com os resultados obtidos, a formulação proposta no presente estudo foi eficaz na redução da quantidade de porfirinas.

Foi realizada, ainda, a contagem de microcomedões, a qual não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre a quantidade antes e após o uso da formulação. Para a obtenção da redução desta lesão subclínica, provavelmente necessitaria um tempo maior de uso do produto.

Em relação à contagem das lesões inflamatórias (pápulas, pústulas e lesões escoriadas) houve uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) após o uso da formulação.

O uso tópico da vitamina B3 (niacinamida) na concentração de 4% em um gel apresentou redução na contagem das lesões inflamatórias, após oito semanas de uso, sendo que, segundo observado pelos autores, tal redução foi equivalente à apresentada por um gel de clindamicina a 1% (SHALITA et al., 1995).

De acordo com o exposto, a associação das substâncias ativas foi fundamental para a obtenção de resultados satisfatórios, considerando a redução da quantidade de porfirinas, bem como a de lesões acneicas, sem interferir na barreira e hidratação cutânea.

O estudo clínico foi também realizado por métodos subjetivos e segundo a percepção dos voluntários, a formulação foi mais eficaz na redução da acne inflamatória do que na redução de comedões, uma vez que todos os voluntários (100%) observaram uma redução nas “espinhas” e 90%, nas “espinhas internas”. A formulação também se mostrou eficaz na redução da sensação de oleosidade, a qual foi expressiva, visto que 13 voluntários notaram sua diminuição. As sensações relacionadas à hidratação, homogeneidade/lisura e, principalmente, maciez da pele, passaram a ser percebidas pelos voluntários após o uso da formulação.

Assim, por meio da avaliação subjetiva, foi possível compreender a percepção dos voluntários acerca do tratamento, bem como mostrar a eficácia da formulação na opinião dos usuários.

Finalizando, o presente trabalho resultou em um produto estável, seguro e eficaz para os cuidados da pele acneica e abre perspectivas para tratamentos não convencionais. Além disso, a formulação desenvolvida no presente estudo pode ser aplicada como adjuvante no tratamento de graus mais severos da acne, atuando na manutenção da eudermia deste tipo de pele, uma vez que a mesma não apresentou efeitos indesejáveis, como redução da hidratação e danos na barreira cutânea.

8. Conclusão

Nas condições experimentais desse trabalho, foi possível concluir que:

- Nas etapas de desenvolvimento e estabilidade, somente as formulações F11a e F11b apresentaram-se estáveis frente à centrifugação e aos testes preliminares de estabilidade;
- No teste de estabilidade física por determinação do comportamento reológico as formulações F11a e F11b foram consideradas estáveis, uma vez que, os resultados obtidos frente aos parâmetros analisados não apresentaram incoerências nas curvas de fluxo e nas variáveis reológicas.
- As formulações apresentaram compatibilidade cutânea considerada como “muito boa”, de acordo com o teste realizado, e sem potencial comedogênico;
- Na avaliação sensorial, as frequências obtidas para os parâmetros considerados como ruins foram baixas, indicando que o sensorial da formulação mostrou-se adequado para as finalidades propostas;
- No estudo de eficácia clínica, a formulação mostrou-se eficaz na redução de porfirinas e na redução da contagem das lesões inflamatórias acneicas sem comprometer a hidratação e a função barreira da pele.
- A avaliação clínica por métodos subjetivos mostrou a eficácia da formulação quanto à melhora da acne inflamatória, oleosidade da pele, bem como hidratação e maciez.

Os resultados obtidos mostraram a importância da seleção adequada de matérias-primas na etapa de pesquisa e desenvolvimento para a elaboração e obtenção de formulações estáveis, seguras, eficazes e com sensorial adequado para formulações cosméticas.

O produto desenvolvido atingiu às finalidades propostas, uma vez que apresentou eficácia clínica na redução da acne sem causar desconfortos, ou seja, os voluntários não apresentaram efeitos indesejáveis. Além disso, o tratamento da pele acneica com produtos com comprovada eficácia e compatibilidade cutânea é fundamental, considerando o incômodo causado por este tipo de pele, também pelo seu caráter inestético.

9. Referências

ADAMS, J.; WILLIAMS, A.; LANCASTER, B.; FOLEY, M. Advantages and uses of check-all-that-apply response compared to traditional scaling of attributes for salty snacks. *In.*: **7th Pangborn Sensory Science Symposium**. Minneapolis, USA, 2007.

AKIYAMA, E.; YAMAMOTO, T.; YAGO, Y.; HOTTA, H.; IHARA, T.; KITSUKI, T. Thickening properties and emulsification mechanisms of new derivatives of polysaccharide in aqueous solution 2. The effect of the substitution ratio of hydrophobic/hydrophilic moieties. **J Colloid Interface Sci.** v.15, n.311, p.438-446, 2005.

AQUALON. Natrosol®Hidroxyethylcellulose – A non ionic water soluble polymer. 1999. Disponível em: <http://www.ashland.com/Ashland/Static/Documents/AAFI/PRO-250-11G_Natrosol11G.pdf>. Acesso em: 4 ago. 2012.

ANGELOVA-FISCHER, I.; Fernandez, I. M.; Donnadieu, M., Bulfone-Paus, S; Zillikens, D.; Fischer, T. W.; Soumelis, V. Injury to the Stratum Corneum Induces In Vivo Expression of Human Thymic Stromal Lymphopoietin in the Epidermis. **J Invest Dermatol.** v. 130, p. 2505–2507, 2010.

ARANCIBIA, C.; JUBLOT, L.; COSTELL, E.; BAYARRI, S. Flavor release and sensory characteristics of o/w emulsions. Influence of composition, microstructure and rheological behavior. **Food Res Int.** v. 44 i. 6, p. 1632 – 1641. 2011.

AYER, J.; BURROWS, N. Acne: more than skin deep. **Postgrad Med J**, v. 82, n. 970, p. 500-506, 2006.

BAE, Y. S.; HILL, N. D.; BIBI, Y.; DREIHER, J.; COHEN, A. D. Innovative uses for zinc in dermatology. **Dermatol Clin**, v. 28, n. 3, p. 587-97, 2010.

BAKIBIN, B.; AZIN, A.; SHIMA, Y.; HEJAZI, S. Evaluation of Efficacy of Intense Pulsed Light (IPL) System in the Treatment of Facial Acne Vulgaris: Comparision of Different Pulse Durations; A Pilot Study. **J Lasers Med Sci.** V. 2 N. 2 p. 67-72. 2011.

BARNES, H. A.; HUTTON, J. F.; WALTES, K. **An introduction to Rheology**. San Diego: Elsevier, 1993.

BARRATT, H.; HAMILTON, F.; CAR, J.; LYONS, C.; LAYTON, A.; MAJEED, A. Outcome measures in acnevulgaris: systematic review. **Br J Dermatol**, v.160, n. 1, p.132-6, 2009.

BERARDESCA, E.; European Group for Efficacy Measurements on Cosmetics and Other Topical Products (EEMCO). EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. **Skin Res Technol**, v. 3, p. 126–132, 1997.

BIEDRON, R.; CISZEK, M.; TOKARCZYK, M.; BOBEK, M.; KURNYTA, M.; SŁOMINSKA, E. M.; SMOLEŃSKI, R. T.; MARCINKIEWICZ, J. 1-Methylnicotinamide and nicotinamide: two related anti-inflammatory agents that differentially affect the functions of activated macrophages. **Arch Immunol Ther Exp (Warsz)**, v. 56, n. 2, p. 127-34, 2008.

BORELLI, C.; MERK, K.; SCHALLER, M.; JACOB, K.; VOGESER, M.; WEINDL, G.; BERGER, U.; PLEWIG, G. In vivo porphyrin production by P. acnes in untreated acne

patients and its modulation by acne treatment. **Acta Derm Venereol.** v. 86, n.4, p.316-9, 2006.

BRASIL. Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para avaliação de estabilidade de produtos cosméticos.** Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BRUMMER, R. **Rheology Essentials of Cosmetic and Food Emulsions.** Springer – Verlag-Berlin Heidelberg: Berlin, 2006.

BYRNE, A. J. Bioengineering and subjective approaches to the clinical evaluation of dry skin. **Int J Cosmet Sci.** v. 32, p.410-421. 2010.

CALZAVARA-PINTON, P.; LONGO, C.; VENTURINI, M.; SALA, R.; PELLACANI, G. Reflectance confocal microscopy for in vivo skin imaging. **Photochem Photobiol.**, v. 84, n. 6, p.1421-1430, 2008.

CASETTI, F.; WÖLFLE, U.; GEHRING, W.; SCHEMPP, C. M. Dermocosmetics for dry skin: a new role for botanical extracts. **Skin Pharmacol Physiol.** V. 24, n.6, p. 289-93, 2011.

CHABBRA, R. P. **Non-Newtonian Fluids: An Introduction.** Rheology of complex fluids. Springer – Verlag-Berlin Heidelberg: Berlin, 2010.

CHENG, Y.; DONG, Y.; DONG, M.; WANG, C.; SUN, Y.; SU, N.; LIU, J.; ZHENG H.; YANG, X.; LI, J.; ANDREAS, S.; ROHR, M.; LIU, W. Moisturizing and antisebum effect of cosmetic application on facial skin. **J Cosmet Dermatol.** v.6, n.3, p.172-177, 2007.

CHIARI, B. G.; ALMEIDA, M. G. J.; CORREA, A. M.; ISAAC, V. L. B. Cosmetic's quality control. **Latest Research into Quality Control**, Dr. Isin Akyar (Ed.), 2012.

CHU, M.; KOLLIAS, N.; LUEDTKE, M. A. Confocal Scanning Laser Microscopy: Applications for Imaging Dynamic Processes in Skin In Vivo. *In*: **Laser Scanning, Theory and Applications.** In Tech, 2011. Disponível em: <http://cdn.intechopen.com/pdfs/15798/InTechConfocal_scanning_laser_microscopy_applications_for_imaging_dynamic_processes_In_skin_in_vivo.pdf>. Acesso em: 26 fev. 2012.

COLIPA. **Guidelines for the evaluation of the efficacy of cosmetic products**, 2008. Disponível em: <<https://www.cosmeticseurope.eu/publications-cosmetics-europe-association/guidelines.html?view=item&id=23>>. Acesso em: 02 set. 2013.

COLLIER, A. P.; FREEMAN, S. R.; DELLAVALLE, R. P. Acne Vulgaris. *In*: WILLIAMS, H. **Evidence-Based Dermatology**, 2 Ed., Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, 2009.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE - Resolução 196/96 do Ministério da Saúde. Diário Oficial, 16/10/1996.

CRESPO, J.E.; PARRES, F.; PEYDRO, M. A.; NVARRO, R. Study of rheological, thermal, and mechanical behavior of reprocessed polyamide 6. **Polym Eng Sci.** v. 53, n.679–688, 2013.

- CROSS, M. M. Rheology of non-Newtonian fluids: a new flow equation for pseudoplastic systems. **J. Colloid Sci.** v. 20, n. 5, p. 417-437, 1965.
- 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.
- DEGITZ, K.; PLACZEK, M.; BORELLI, C.; PLEWIG, G. Pathophysiology of acne. **JDDG**, v. 5, p. 316–323, 2007.
- DOBREV, H. Clinical and instrumental study of the efficacy of a new sebum control cream. **J Cosmet Dermatol**, v. 6, n. 2, p.113-118, 2007.
- DOBREV, H. Fluorescence Diagnostic imaging in patients with acne. **Photodermatol Photoimmunol Photomed.** v.26, n. 6, p. 285-289, 2010.
- DRAELOS, Z. D. Cosmetic in Acne and Rosacea. **Semin Cutan Med Surg.** v. 20, n. 3, p.209-214, 2001.
- DUARTE, Cláudia Margarida Gouveia. Caracterização Químico-Física de Novos Polímeros Estabilizantes para Formulações da Indústria de Cosméticos. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de Coimbra, 2011. Disponível em: <<https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/17545>>. Acesso em: 05 nov. 2012.
- EHLERS, C.; IVENS, U. I.; MOLLER, M. L.; SENDEROVITZ, T.; SERUP, J. Comparison of two Ph meters used for skin surface pH measurement: the pH meter pH900 from Courage & Khazaka versus the pH meter 1140 from Mettler Toledo. **Skin Res Technol**, v, 7, n. 2, p. 84-89, 2001.
- FELDMANN, R. J.; MAIBACH, H.I. Absorption of some organic compounds through the skin in man. **J Invest Dermatol.** v. 54, p. 399-404, 1970.
- FLUHR, J. W.; BÖSCH, B.; GLOOR, M.; HÖFFLER, U. In-vitro and in-vivo efficacy of zinc acetate against propionibacteria alone and in combination with erythromycin. **Zentralbl Bakteriol.** v, 289, p.4, p.445-456, 1999.
- FLUHR, J. W. Practical Aspects of Cosmetic Testing: How to Set up a Scientific Study in Skin Physiology. Springer: Verlag Berlin Heidelberg, 2011.
- FRITSCH, P.; BURGDOR, W. F.; MURPHY, G.; RING, J. Skin disease in Europe. **Eur J Dermatol.** v. 19, n.5, p. 530-537, 2009.
- FURUICHI, M.; MAKINO, T.; MATSUNAGA, K.; HAMADE, E.; YOKOI, H.; SHIMIZU, T. The usefulness of sebum check film for measuring the secretion of sebum. **Arch Dermatol Res**, v. 302, n. 9, p. 657-60, 2010.
- GARCEL, S.; MERAT, E.; AMALRIC, C.; ROSO, A. Stabilising polymers achieve fluid formulations. **Pers Care Mag.**, 2010. Disponível em: <<http://www.personalcaremagazine.com>>. Acesso em: 25 set. 2011.

- GATTEFOSSÉ. Emulium® 22. 2012. Disponível em: <http://www.addiactive.com/Portals/0/pdf/catalogue/Emulium22.pdf>. Acesso em 05 ago. 2012.
- GOMES, A. L.; LANGER, C. M.; OLIVEIRA, E. C.; VAIROLLETO, L. Diferentes tipos de pele: diferentes necessidades cosméticas. In: **Congresso Nacional de Cosmetologia**, 12, 1998. São Paulo, Anais. São Paulo. p.200-231. 1998.
- GONÇALVES, G. M. S.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Shelf life and rheology of emulsions containing vitamin C and its derivatives. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.** v. 30, n. 2, 2009.
- GONZÁLEZ, S.; GILABERTE-CALZADA, Y. *In vivo* reflectance-mode confocal microscopy in clinical dermatology and cosmetology. **Intern. J. Cosmet. Sci.**, v. 30, p. 1-17, 2008.
- GRABER, E. M.; THIBOUTOT, D. Over-the-Counter Acne Treatments. In: DRAELOS, Z. D. **Cosmetic Dermatology: Products and Procedures**. Wiley-Blackwell: Oxford, UK, 2010.
- GUERRERO, D. Dermocosmetic approach to acne by the dermatologist. **Annales de dermatologie**. v. 137, n. 5, p. 29-32, 2010.
- IWATA, H.; SHIMADA, K. Formulas, Ingredients and Production of Cosmetics: Technology of Skin and Hair-Care Products in Japan. Disponível em: <<http://link.springer.com/book/10.1007/978-4-431-54061-8/page/1>>. Acesso em: 05 nov. 2012.
- JAHNS, A. C.; LUNDSKOG, B.; GANCEVICIENE, R.; PALMER, R. H.; GOLOVLEVA, I.; ZOUBOULIS, C. C.; MCDOWELL, A.; PATRICK, S.; ALEXEYEV, O. A. An increased incidence of *Propionibacterium acnes* biofilms in acne vulgaris: a case-control study. **Br J Dermatol**. v.167, p. 50-58, 2012.
- KAMANGAR, F.; SHINKAI, K. Acne in the adult female patient: a practical approach. **Int J Dermatol**. v.51, n.10, p.1162-74, 2012.
- KARSHEVA, M.; GEORGIEVA, S.; HANDJIEVA, S. The choice of the thickener - a way to improve the cosmetics sensory properties. **JUCTM**. v. 42, n. 2, p. 187-194, 2007.
- KATO, N. Role of vitamin B6 in skin health and diseases. **Human Health Handbooks**. Volume 2. Springer – Verlag-Berlin Heidelberg: Berlin, pp 58-66, 2012.
- KATSAMBAS, A.; DESSINIOTI, C. New and emerging treatments in dermatology: acne. **Dermatol Ther.**, v. 21, n. 2, p. 86-95, 2008.
- KATSAMBAS, A. D.; STEFANAKI, C.; CUNLIFFE, W. J. Guidelines for treating acne. **Clin Dermatol**. v. 22, n.5, p.439-444, 2004.
- KAYMAK, Y; ONDER, M. An Investigation of Efficacy of Topical Niacinamide for the Treatment of Mild and Moderate Acne Vulgaris. **J Turk Acad Dermatol**, v. 2, n. 4, p. 1-4, 2008.
- KLIGMAN, A. M; MILLS, O. H. Acne Cosmetic. **Arch Dermatol**, v.106, p. 8-13, 1972.

KRAKOWSKI, A. C.; STENDARDO, S.; EICHENFIELD, L. F. Practical considerations in acne treatment and the clinical impact of topical combination therapy. **Pediatr Dermatol.** v. 25, n. 1, p.1-14, 2008.

KIM, E.; CHO, G.; WON, N. G.; CHO, J. Age-related changes in skin bio-mechanical properties: the neck skin compared with the cheek and forearm skin in Korean females. **Skin Res Technol.** v.19, n.3, p.236-41, 2013.

KIRK-OTHMER ENCYCLOPEDIA OF CHEMICAL TECHNOLOGY, 2006. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/0471238961>>. Acesso em: 5 nov. 2012.

KUNDU, S. K.; YOSHIDA, M.; SHIBAYAMA, M. Effect of salt content on the rheological properties of hydrogel based on oligomeric electrolyte. **J Phys Chem B.** v.4, n.4, p. 1541-1547, 2009.

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, n.10, p.821-832, 2009.

LAMBERS, H.; PIESENS, S.; BLOEM, A.; PRONK, H.; FINKEL, P. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. **Int J Cosmet Sci.** v. 28, n. 5, p. 359-370. 2006.

LARSON, R.G. The Structure and Rheology of Complex Fluids, Oxford University Press, New York. 1999.

LEVY, J. L.; TRELLES, M.; SERVANT, J. J.; AGOPIAN, L. Non-ablative skin remodeling: an 8-month clinical and 3D in vivo profilometric study with an 810 nm diode laser. **J. Cosmet. Laser Ther.** v.6, n.1, p.11-15, 2004.

LUBRIZOL. Carbopol® Ultrez 20 Polymer: The New Standard for High Performance Rheology Control. 2006. Disponível em: <<http://www.lubrizol.com/PersonalCare/Products/Carbopol/Ultrez20.html>>. Acesso em: 05 mai. 2012.

LUBRIZOL. Novemer® EC-2 Polymer Multifunctional Liquid Polymer for High Performance Skin Care Systems. 2011. Disponível em: <<http://www.lubrizol.com/PersonalCare/Products/Novemer/NovemerEC-2.html>>. Acesso em: 05 mai. 2012.

LUKIC, M.; JAKSIC, I.; KRSTONIC, V.; DOKIC, L.; SAVIC, S. Effect of Small Change in Oil Phase Composition on Rheological and Textural Properties of w/o Emulsion. **J Tex Stud,** 44: 34-44. 2013.

MACHADO, M.; SALGADO, T. M.; HADGRAFT, J.; LANE, M. E. The relationship between transepidermal water loss and skin permeability. **Int J Pharm.** v. 15, p.73-77, 2010.

MAGIN, P. J.; ADAMS, J.; POND, C. D.; SMITH, W. Topical and oral CAM in acne: a review of the empirical evidence and a consideration of its context. **Complement Ther Med,** v. 14, n. 1, p. 62-76, 2006.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; BADRA, M. V. L. Estudo da estabilidade física de bases dermocosméticas contendo ésteres fosfóricos. **Aer & Cosm**, v.79, p.8-11, 1992.

MARSICH, E.; TRAVAN, A.; FERESINI, M.; LAPASIN, R.; PAOLETTI, S.; DONATI, I. Polysaccharide-Based Polyanion–Polycation–Polyanion Ternary Systems in the Concentrated Regime and Hydrogel Form. **Macromol. Chem. Phys.** v. 214, n. 1309–1320, 2013.

MERCÚRIO, Daiane Garcia. **Desenvolvimento e avaliação de eficácia de formulações fotoprotetoras para a pele oleosa contendo extrato de *Anacardium occidentale***. 2012. Dissertação (Mestrado em Medicamentos e Cosméticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-03072012-132236/>>. Acesso em: 05 nov. 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de atenção à saúde. **Protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas**. Volume 1.2 ed. Brasília-DF, 2010.

MOSER, P.; CORNELIO, M. L.; TELIS, V. R. N. Influence on the concentration of polyols on the rheological and spectral characteristics of guar gum. **Food Sci Technol**. v. 53, n. 1, p. 29-36, 2013.

NEHAL, K.S.; GAREAU, D.; RAJADHYAKSHA, M. Skin imaging with reflectance confocal microscopy. **Semin Cutan Med Surg.**, v. 27, n. 1, p. 37-43, 2008.

OCHIAI, Y; FUJISHIRO, M.; OKANO, Y.; MASAKI, H. The new role of vitamin B6 on skin moisturization through filaggrin upregulation in human keratinocytes and development of its derivative. In: Cosmos, 2006.

OTTE, N.; BORELLI, C.; KORTING, H. C. Nicotinamide - biologic actions of an emerging cosmetic ingredient. **Int J Cosmet Sci**. v. 27, n.5, p.255-261. 2006.

PARRA, J. L.; PAYE, M.; EEMCO Group. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin surface pH. **Skin Pharmacol Appl Skin Physiol**. V. 6, n.3, p.188-202. 2003.

PARENTE, M. E.; GASTÓN, A.; MANZONI, A. V. Application of two consumer profiling techniques to cosmetic emulsions. **J. Sens. Stud**. v. 25, p. 685-705, 2010.

PARENTE, M. E.; MANZONI, A. V.; ARES, G. External preference mapping of commercial antiaging creams based on consumers' responses to a check-all-that-apply question. **J. Sens. Stud**. v. 26, p. 158–166, 2011.

PARK, E. S.; NA, J. I.; KIM, S. O.; HUH, C. H.; YOUN, S. W.; PARK, K. C. Application of a pigment measuring device--Mexameter--for the differential diagnosis of vitiligo and nevus depigmentosus. **Skin Res Technol**. v. 12, n. 4, p. 298-302. 2006.

PENA FERREIRA, M. R.; COSTA, P. C.; BAHIA, F. M. Efficacy of anti-wrinkle products in skin surface appearance: a comparative study using non-invasive methods. **Skin Res Technol**, v. 16, p. 444–449, 2010.

- PIÉRARD-FRANCHIMONT, C.; MARTALO, O.; RICHARD, A.; ROUGIER, A.; PIÉRARD, G. E. Sebum rheology evaluated by two methods in vivo. Split-face study of the effect of a cosmetic formulation. **Eur J Dermatol**, v. 9, n. 6, p. 455-457, 1999.
- POCHI, P. E.; SHALITA, A. R.; STRAUSS, J. S. Report of the Consensus Conference on Acne Classification. **J Am Acad Dermatol**. v. 24, n. 3, p. 495-500, 1991.
- RAYMENT, P.; ROSS-MURPHY, S. B.; ELLIS, P. R. Rheological properties of guar galactomannan and rice starch mixtures-I. Steady shear measurements. **Carbohydr. Polym.** v. 28, n. 2, p. 121-130, 1995.
- ROGIER, V.; EEMCO GROUP. EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. **Skin Pharmacol Appl Skin Physiol**. v. 14, n. 2, p. 117-128, 2001.
- ROURE, R.; ODDOS, T.; ROSSI, A.; VIAL, F.; BERTIN, C. Evaluation of the efficacy of a topical cosmetic slimming product combining tetrahydroxypropylethylenediamine, caffeine, carnitine, forskolin and retinol, In vitro, ex vivo and in vivo studies. **Int J Cosmet Sci**. v. 33, n.6, p.519-526, 2011.
- SAHA, D.; BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. **J Food Sci Technol**, v. 47, n.6, p. 587-597, 2010.
- SALVADOR, A.; CHISVERT, A. **Analysis of cosmetic products**. 1 ed. Elsevier: Amsterdam, 2007.
- SARASOGLU, Z. N.; ASKO, A. E. K.; KOKSUZ, T.; SABUNCU, I.; ARIKAN, I. et al. Efficacy and Safety of Topical Niacinamide for Acne Vulgaris. **Tukderm**, v. 45, n. 2, p. 93, 2011.
- SERUP, J. Efficacy testing of cosmetic products. A proposal to the European Community by the Danish Environmental Protection Agency, Ministry of Environment and Energy. **Skin Res Technol**. V. 7, n. 3, p. 141-151. 2001.
- SHALITA, A. R.; SMITH J. G.; PARISH, L. C.; SOFMAN, M. S.; CHALKER, D. K. Topical nicotinamide compared with clindamycin gel in the treatment of inflammatory acne vulgaris. **Int J Dermatol**. v.34, n.6, p.434-437, 1995.
- SOULIÈS, A.; PRUVOST, J.; LEGRAND, J.; CASTELAIN, C · BURGHELEA, T. I. Rheological properties of suspensions of the green microalga *Chlorella vulgaris* at various volume fractions. **Rheol acta**. v. 52, p. 589-605, 2013.
- STEIN, G. L. F. What's new in acne and inflammation? **J Drugs Dermatol**, v. 12, n. 6, p.67-69, 2013.
- SZEPETIUK, G.; PIÉRARD, S.; PIERARD-FRANCHIMONT, C.; CAUCANAS, M.; QUATRESOOZ, P.; PIERARD, G. E. Recent trends in specular light reflectance beyond clinical fluorescence diagnosis. **Eur J Dermatol**, v. 21, n. 2, p. 157-161, 2011.

- SYMES, K. C. The relationship between the covalent structure of the *Xanthomonas polysaccharide* (Xanthan) and its function as a thickening, suspending and gelling agent. **Food Chem.** v. 6, n. 1, p. 63-76, 1980.
- TACHINARDI, F.; SÁ DIAS, T. C.; PIRICILI, C. A. D.; GOMES, A. L.; ARRUDA, R. Avaliação sensorial de produtos cosméticos em pele. In: **XVII COLAMIQ**, 2005, CUSCO CD-ROMM CUSCU, 2005.
- TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsion. **Adv Colloid Interface Sci.** v. 108, n. 9, p. 227-258, 2004.
- TANNO, O. The new efficacy of niacinamide in the skin and the application to the skin care products of cosmetics. **Frag J.** v. 32, n. 2, p. 35-39, 2004.
- TEIXEIRA, R. S.; ARAÚJO, L.A, MERCÚRIO, D. G.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Application of biophysical techniques to evaluate the efficacy of a gel with zinc pca. International Society for Biophysics and Imaging of the skin. Milan, 2013.
- THIBOUTOT, D.; GOLLNICK, H.; BETTOLI, V.; DRÉNO, B.; KANG, S.; LEYDEN, J. J.; SHALITA, A.R.; LOZADA, V. T.; BERSON, D.; FINLAY, A.; GOH, C. L.; HERANE, M. I.; KAMINSKY, A.; KUBBA, R.; LAYTON, A.; MIYACHI, Y.; PEREZ, M.; MARTIN, J. P.; RAMOS-E-SILVA, M.; SEE, J. A.; SHEAR, N.; WOLF, J. Jr. Global Alliance to Improve Outcomes in Acne. New insights into the management of acne: an update from the Global Alliance to Improve Outcomes in Acne group. **J Am Acad Dermatol**, v. 60 (5 Suppl), p. S1-50, 2009.
- VERDIER-SÉVRAIN, S.; BONTÉ, F. Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. **J Cosmet Dermatol**, v. 6, n. 2, p.75-82, 2007.
- WILLIAMS, H.; DELLAVALLE, R. P.; GARNER, S. Acne vulgaris. **The Lancet**, v. 379, n. 9813, p. 361-372, 2012.
- WONDRAK, G. T.; JACOBSON, E. L. Vitamin b6: beyond coenzyme functions. **Subcell Biochem**, v. 56, p. 291-300, 2012.
- WORTEL, V.A.L.; WIECHERS, J.W. Skin sensory performance of individual personal care ingredients and marketed personal care products. **Food Qual. Prefer**, v. 11, p. 121-127, 2000.
- YIN, W.; ZENG, X.; LI, H.; LIN, X.; REN, B.; TONG, Z.; Steady rheological behaviors of UV-curable waterborne hyperbranched polyurethane acrylate dispersions. **J. Coat. Technol. Res**, v. 10, n. 1, p. 57-64. 2013.

Apêndices

APÊNDICE I

As figuras (A, B, C e D) mostram a relação e a influência dos parâmetros η_0 , η_∞ , K_{CR} , n e σ_0 (de acordo com o modelo de Cross com a inclusão do termo *yield stress*) nas curvas de fluxo.

Em que η_0 é a viscosidade inicial [Pas]; η_∞ é a viscosidade no infinito [Pas]; K_{CR} é o tempo de relaxação [sec]; n é o expoente adimensional; σ_0 é o *yield stress* [Pa].

APÊNDICE II

Valores do conteúdo aquoso do estrato córneo, antes (T_0) e após seis semanas (T_{42}) do uso da formulação, nas regiões fronte média (FM), região malar (RM) e queixo (QX).

Voluntários	T_0			T_{42}		
	FM	RM	QX	FM	RM	QX
1	61	72	72	51	66	62
	55	75	61	55	69	67
	54	76	75	53	65	58
	58	78	62	58	60	67
2	49	47	41	53	71	63
	48	50	55	56	60	64
	39	55	59	50	70	58
	42	56	66	53	69	62
3	74	82	58	77	83	75
	74	83	59	74	84	69
	73	84	51	78	85	73
	75	86	73	76	87	81
4	49	54	60	58	53	58
	59	53	63	53	60	54
	38	55	53	51	63	59
	56	65	65	53	62	61
5	52	65	53	38	65	38
	55	68	67	53	64	56
	41	72	60	43	68	46
	58	69	68	38	66	45
6	47	65	58	50	61	59
	57	60	51	43	60	61
	48	58	54	45	52	61
	53	54	54	52	49	58
7	48	38	25	37	35	23
	31	43	23	50	39	22
	37	38	23	44	48	30
	37	48	25	43	40	31
8	46	60	58	50	51	51
	55	66	64	46	41	59
	53	69	60	51	48	63
	61	71	65	46	52	58
9	49	67	61	28	46	54
	52	69	53	30	48	43
	55	69	60	29	50	55
	46	69	54	42	59	46
10	31	69	58	41	70	59
	32	66	53	38	68	59
	40	72	68	40	65	66
	46	73	50	32	68	55

11	60	66	55	71	51	41
	57	61	56	54	51	51
	53	60	53	45	43	46
	59	61	53	64	43	48
12	49	57	63	37	63	60
	49	65	67	43	59	66
	42	59	66	43	55	65
	48	64	68	44	57	65
13	46	64	43	45	67	58
	45	60	47	48	64	51
	40	58	48	49	64	49
	38	58	40	48	64	47
14	61	54	62	59	65	65
	59	55	58	57	70	65
	57	55	56	52	63	70
	43	57	54	62	80	66
15	77	90	66	64	80	54
	75	81	52	66	79	60
	72	78	65	70	75	55
	73	76	66	66	66	56

APÊNDICE III

Valores da perda de água transepidérmica, antes (T_0) e após seis semanas (T_{42}) do uso da formulação, nas regiões fronte média (FM), região malar (RM) e queixo (QX).

Voluntários	T_0			T_{42}		
	FM	RM	QX	FM	RM	QX
1	11,1	13,1	18,0	10,5	12,7	12,0
2	12,9	11,0	14,3	1,01	9,6	10,2
3	7,5	13,2	19,0	7,2	9,6	15,5
4	6,9	16,5	15,2	7,1	13,9	11,5
5	4,1	7,7	10,0	9,2	18,2	15,5
6	10,0	13	16,6	12,0	13,7	16,9
7	12,5	10,5	18,7	10,8	13,0	13,5
8	7,0	12,1	11,7	8,5	13,0	13,3
9	9,4	12,0	17,5	14,5	14,9	27,4
10	7,7	12,0	18,0	5,0	11,5	13,5
11	46,0	23,0	43,8	37,0	30,0	45,0
12	10,8	14,7	17,4	11,5	16,0	15,3
13	11,5	17,5	22,5	16,5	21,0	23,0
14	14,5	18,0	13,0	8,3	15,7	13,1
15	7,6	14,5	16,5	11,0	13,1	16,0

APÊNDICE IV

Valores da quantidade de sebo, antes (T_0) e após seis semanas (T_{42}) do uso da formulação, nas regiões fronte média (FM), região malar (RM) e queixo (QX).

Voluntários	T₀			T₄₂		
	FM	RM	QX	FM	RM	QX
1	409	258	173	116	440	430
2	468	211	162	280	331	409
3	393	147	308	378	296	315
4	372	346	436	353	51	242
5	445	242	306	384	358	378
6	87	383	143	499	428	490
7	82	55	305	391	251	294
8	112	286	424	388	291	343
9	242	454	388	369	369	362
10	475	384	402	462	397	365
11	490	431	431	393	480	464
12	495	421	336	438	462	348
13	178	476	473	353	136	395
14	398	485	185	438	312	306
15	346	301	386	398	331	336

APÊNDICE V

Média da triplicata do pH cutâneo, antes (T_0) e após seis semanas (T_{42}) do uso da formulação, nas regiões fronte média (FM), região malar (RM) e queixo (QX).

Voluntários	T_0			T_{42}		
	FM	RM	QX	FM	RM	QX
1	4,8	4,8	4,7	5,3	5,5	5,2
2	5,13	5,8	4,8	5,1	5,4	5,5
3	4,2	4,3	4,4	4,0	4,2	4,4
4	4,3	4,33	4,47	4,3	5,1	4,9
5	4,9	4,4	4,6	5,3	5,7	5,0
6	4,4	4,5	4,6	4,8	5,1	4,9
7	4,7	5,4	5,5	5,7	5,7	6,0
8	4,6	5,0	5,3	4,5	5,5	5,0
9	4,9	5,4	5,0	5,5	5,6	5,5
10	5,2	4,9	5,1	4,1	4,5	4,3
11	4,0	4,6	4,6	4,3	4,2	4,3
12	5,0	5,5	5,3	4,5	4,7	4,7
13	4,4	5,2	4,8	4,3	4,7	5,1
14	4,3	4,4	4,8	4,3	4,3	4,3
15	4,2	4,5	4,4	4,1	4,3	4,4

APÊNDICE VI

Contagem de porfirinas, antes (T_0) e após seis semanas (T_{42}) do uso da formulação, nas regiões fronte média (FM), região malar (RM) e queixo (QX).

Voluntários	T_0			T_{42}		
	FM	RM	QX	FM	RM	QX
1	16	58	71	19	40	51
2	18	41	52	20	45	45
3	50	23	51	50	26	67
4	5	51	31	3	53	23
5	56	26	41	55	20	49
6	50	61	65	19	25	44
7	118	118	84	76	66	80
8	33	12	30	31	19	15
9	117	57	72	101	54	57
10	39	90	139	23	45	97
11	67	52	144	61	36	71
12	82	67	60	69	63	41
13	28	26	35	19	48	63
14	40	43	29	46	32	25
15	18	18	53	11	16	34

APÊNDICE VII

Contagem de microcomedões, antes (T_0) e após seis semanas (T_{42}) do uso da formulação, na região malar (RM).

	T₀	T₄₂
Voluntários	RM	RM
1	52	80
2	60	31
3	33	38
4	60	50
5	119	81
6	98	116
7	105	58
8	57	64
9	58	44
10	107	78
11	104	107
12	94	75
13	60	33
14	47	78
15	37	42

APÊNDICE VIII

Contagem das lesões inflamatórias da face, antes (T_0) e após seis semanas (T_{42}) do uso da formulação.

Voluntários	T_0	T_{42}
1	6	3
2	9	10
3	7	1
4	9	5
5	5	3
6	6	4
7	3	1
8	5	1
9	3	1
10	17	4
11	4	1
12	3	2
13	6	4
14	5	11
15	3	0

ANEXO I

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

Of. CEP/FCFRP nº. 031/2012
kms

Ribeirão Preto, 17 de maio de 2012.

À
Profa. Dra. Patrícia M. B. G. Maia Campos
Pós-graduanda: Jirrah Pedro de Andrade
FCFRP/USP

Prezada Senhora,

O Comitê de Ética em Pesquisa da FCFRP/USP aprovou, em sua 101ª Sessão Ordinária, realizada em 17/05/2012, o projeto de pesquisa intitulado “DESENVOLVIMENTO E EFICÁCIA CLÍNICA DE DERMOCOSMÉTICOS PARA PELE ACNEICA CONTENDO VITAMINA B3 E DERIVADOS DE VITAMINA B6 E ZINCO”, apresentado por Vossa Senhoria a este Comitê, Protocolo CEP/FCFRP nº. 248.

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 ou nos membros da equipe.

Atenciosamente,

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

ANEXO II

Avaliação primária da compatibilidade cutânea

Formulação veículo

Relatório de estudo versão 01 de 10/06/2013 – Avaliação em humanos da compatibilidade cutânea de um produto cosmético após aplicação única sob apósitos – PT único – Estudo em uso sob controle dermatológico – Evic brasil referência do estudo: 063.552.005.13 – Referência da amostra : 13.0178.03.063

Sinopse (continuação)

<p>POPULAÇÃO DO ESTUDO</p>	<p>Número de voluntários: 20 casos válidos</p> <p>Critério de inclusão: voluntários</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se submeterem a participar do estudo e corresponderem à qualidade de "indivíduo saudável" • tem seguro de saúde • assinarem "Termo de consentimento" para este estudo • certificarem não participar de outro estudo em outro centro de investigação • certificarem a veracidade das informações pessoais declarados para o investigador • capazes de seguir instruções e confiáveis para respeitar as restrições do protocolo • livres para garantir as visitas ao centro de investigação • idade entre 18 e 65 anos • sexo feminino e/ou masculino • com fototipo (Fitzpatrick): I, II, III, IV • declararem não terem se exposto a um risco de gravidez por pelo menos três meses antes do início do estudo e comprometendo-se a utilizar o método contraceptivo eficaz durante todo o estudo (para as mulheres em idade fértil). <p>Critérios de não inclusão : voluntários</p> <ul style="list-style-type: none"> • estiverem em período de exclusão • privados da liberdade por decisão administrativa ou legal ou sob tutela • que não podem ser contactados em caso de emergência • admitirem estar em uma assistência residencial • planejando de uma hospitalização durante o estudo • pertencerem ao quadro de funcionários do centro de investigação • ser maior de idade, mas protegido por lei • com histórico pessoal de reações adversas ao mesmo tipo de produto • com histórico pessoal ou familiar de atopia, com características evolutivas ou sinais clínicos recentes de doença atópica • com histórico documentado de alergia de contato • apresentar marcas cutâneas na área experimental que possam interferir na avaliação das reações da pele (discromias, cicatrizes, hipertricosose, efélides, nevus em grande quantidade, queimaduras solares, hiperpigmentação residual). • que ainda tem reação eczematosa visível, cicatrizes ou manchas pós efeitos de testes anteriores nas áreas experimentais • em tratamento, antes do estudo, capaz de interferir na interpretação dos resultados do estudo • prevendo, durante o estudo, um tratamento capaz de interferir na interpretação dos resultados do estudo: <ul style="list-style-type: none"> — medicação sistêmica ou tópica anti- acne — medicação sistêmica ou tópica com anti- inflamatórios ou anti- histamínicos — antibióticos — dessensibilização • ter tido febre durando mais de 24 horas, dentro de 8 dias antes do estudo • lactantes ou grávidas ou a planejar uma gravidez durante o estudo (para as mulheres em idade fértil) • tendo iniciado ou alterado a contracepção de estrógeno-progesterona ou tratamento hormonal, dentro dos três meses anteriores ao estudo ou previsão para a duração do estudo • ter tido qualquer tratamento estético invasivo nas costas ou cuidados estéticos (peeling, laser ...) por um dermatologista dentro dos dois meses anteriores ao estudo ou prevendo para durante o estudo • ter tido qualquer tratamento estético não invasivo no corpo (esfoliação, limpeza de pele ...) por uma esteticista no mês anterior ao estudo ou previsão para durante o estudo • ter recebido exposição excessiva ou intensa à luz solar (natural ou artificial) no mês anterior ao estudo ou prever exposições UV durante o estudo • Já ter participado estudos clínicos envolvendo teste de apósitos, incluindo 2 HRIPT,
-----------------------------------	---

(continua)

Relatório de estudo versão 01 de 10/06/2013 – Avaliação em humanos da compatibilidade cutânea de um produto cosmético após aplicação única sob apósitos – PT único – Estudo em uso sob controle dermatológico – Evic brasil referência do estudo: 063.552.005.13 – Referência da amostra : 13.0178.03.063

	<p>dentro de 3 meses antes do estudo</p> <ul style="list-style-type: none"> • prevenindo banho de banheira, mar ou piscina, sauna ou banho turco durante o período de estudo <p>prática intensiva e regular de esportes que promovam suor requisitando banhos frequentes</p>
METODOLOGIA	<p>Aplicação do produto sob investigação, pelo técnico responsável do estudo no centro de investigação, uma vez (no D1) sob a área das costas, sob condições maximizadas de exposição (sob apósito semi-oclusivo) e durante tempo definido (48 horas)</p> <p>Aplicação de água para injeção sob a área teste sob apósito semi-oclusivo e durante tempo definido (48 horas) = área controle.</p> <p>Chechagem da compatibilidade cutânea baseada em:</p> <ul style="list-style-type: none"> • um exame cutâneo da área tratada e controle, antes da aplicação do apósito e após a remoção do (em D3), pelo mesmo investigador / técnico, supervisionado pelo investigador • a análise das sensações de desconforto reportadas pelos voluntários diretamente ao investigador / técnico durante o estudo <p>Análise descritiva – Porcentagem de voluntários reativos</p> <p>Para cada voluntário e cada tempo de observação, cálculo do score de irritação individual diário (IDIS) = média das marcas obtidas pelos sinais clínicos visíveis e observados na área de aplicação do produto sob investigação.</p> <p>Para o painel e cada tempo de observação, cálculo da média do score de irritação individual diário (MDIS) de acordo com a fórmula: $MDIS = \Sigma (IDIS) / \text{número de casos válidos}$</p> <p>Para o painel, definição da média máxima do score de irritação diário (MaxMIS).</p>

RESULTADOS

Chechagem da compatibilidade cutânea

Nenhuma reação foi notada no sítio controle

Para o produto sob investigação:

Controle de tempo após remoção do apósito	Tipo de reação	Número de voluntários reativos	% de voluntários reativos	Score médio da irritação diária MDIS	Score médio máximo de irritação MaxMIS	Compatibilidade cutânea do produto
T30 minutos (D3)	Nenhum	0	0%	0	0	Muito boa

CONCLUSÃO

Sob as condições experimentais adotadas, única aplicação do produto **FGXK - V**, tal-qual, sob apósito semi-oclusivo, em um painel de 22 voluntários, com idade entre 25 e 54 anos, com fototipo de I a IV, não induziu reação de irritação significativa e o produto tem **muito boa compatibilidade cutânea**.

(continua)

Formulação adicionada dos ingredientes ativos

Relatório de estudo versão 01 de 10/06/2013 – Avaliação em humanos da compatibilidade cutânea de um produto cosmético após aplicação única sob apósitos – PT único – Estudo em uso sob controle dermatológico – Evic brasil referência do estudo: 063.552.006.13 – Referência da amostra : 13.0178.04.063

Sinopse (continuação)

POPULAÇÃO DO ESTUDO	<p>Número de voluntários: 20 casos válidos</p> <p>Critério de inclusão: voluntários</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se submeterem a participar do estudo e corresponderem à qualidade de "indivíduo saudável" • tem seguro de saúde • assinarem "Termo de consentimento" para este estudo • certificarem não participar de outro estudo em outro centro de investigação • certificarem a veracidade das informações pessoais declarados para o investigador • capazes de seguir instruções e confiáveis para respeitar as restrições do protocolo • livres para garantir as visitas ao centro de investigação • idade entre 18 e 65 anos • sexo feminino e/ou masculino • com fototipo (Fitzpatrick): I, II, III, IV • declararem não terem se exposto a um risco de gravidez por pelo menos três meses antes do início do estudo e comprometendo-se a utilizar o método contraceptivo eficaz durante todo o estudo (para as mulheres em idade fértil). <p>Critérios de não inclusão : voluntários</p> <ul style="list-style-type: none"> • estiverem em período de exclusão • privados da liberdade por decisão administrativa ou legal ou sob tutela • que não podem ser contactados em caso de emergência • admitirem estar em uma assistência residencial • planejando de uma hospitalização durante o estudo • pertencerem ao quadro de funcionários do centro de investigação • ser maior de idade, mas protegido por lei • com histórico pessoal de reações adversas ao mesmo tipo de produto • com histórico pessoal ou familiar de atopia, com características evolutivas ou sinais clínicos recentes de doença atópica • com histórico documentado de alergia de contato • apresentar marcas cutâneas na área experimental que possam interferir na avaliação das reações da pele (discromias, cicatrizes, hipertricrose, efélides, nevus em grande quantidade, queimaduras solares, hiperpigmentação residual). • que ainda tem reação eczematosa visível, cicatrizes ou manchas pós efeitos de testes anteriores nas áreas experimentais • em tratamento, antes do estudo, capaz de interferir na interpretação dos resultados do estudo • prevendo, durante o estudo, um tratamento capaz de interferir na interpretação dos resultados do estudo: <ul style="list-style-type: none"> — medicação sistêmica ou tópica anti- acne — medicação sistêmica ou tópica com anti- inflamatórios ou anti- histamínicos — antibióticos — dessensibilização • ter tido febre durante mais de 24 horas, dentro de 8 dias antes do estudo • lactantes ou grávidas ou a planejar uma gravidez durante o estudo (para as mulheres em idade fértil) • tendo iniciado ou alterado a contracepção de estrógeno-progesterona ou tratamento hormonal, dentro dos três meses anteriores ao estudo ou previsão para a duração do estudo • ter tido qualquer tratamento estético invasivo nas costas ou cuidados estéticos (peeling, laser ...) por um dermatologista dentro dos dois meses anteriores ao estudo ou prevendo para durante o estudo • ter tido qualquer tratamento estético não invasivo no corpo (esfoliação, limpeza de pele ...) por uma esteticista no mês anterior ao estudo ou previsão para durante o estudo • ter recebido exposição excessiva ou intensa à luz solar (natural ou artificial) no mês anterior ao estudo ou prever exposições UV durante o estudo • Já ter participado estudos clínicos envolvendo teste de apósitos, incluindo 2 HRIPT,
---------------------	--

(continua)

Relatório de estudo versão 01 de 10/06/2013 – Avaliação em humanos da compatibilidade cutânea de um produto cosmético após aplicação única sob apósitos – PT único – Estudo em uso sob controle dermatológico – Evic brasil referência do estudo: 063.552.006.13 – Referência da amostra : 13.0178.04.063

	<ul style="list-style-type: none"> dentro de 3 meses antes do estudo prevedendo banho de banheira, mar ou piscina, sauna ou banho turco durante o período de estudo prática intensiva e regular de esportes que promovam suor requisitando banhos frequentes
METODOLOGIA	<p>Aplicação do produto sob investigação, pelo técnico responsável do estudo no centro de investigação, uma vez (no D1) sob a área das costas, sob condições maximizadas de exposição (sob apósito semi-oclusivo) e durante tempo definido (48 horas)</p> <p>Aplicação de água para injeção sob a área teste sob apósito semi-oclusivo e durante tempo definido (48 horas) = área controle.</p> <p>Checagem da compatibilidade cutânea baseada em:</p> <ul style="list-style-type: none"> um exame cutâneo da área tratada e controle, antes da aplicação do apósito e após a remoção do (em D3), pelo mesmo investigador / técnico, supervisionado pelo investigador a análise das sensações de desconforto reportadas pelos voluntários diretamente ao investigador / técnico durante o estudo <p>Análise descritiva – Porcentagem de voluntários reativos</p> <p>Para cada voluntário e cada tempo de observação, cálculo do score de irritação individual diário (IDIS) = média das marcas obtidas pelos sinais clínicos visíveis e observados na área de aplicação do produto sob investigação.</p> <p>Para o painel e cada tempo de observação, cálculo da média do score de irritação individual diário (MDIS) de acordo com a fórmula: $MDIS = \Sigma (IDIS) / \text{número de casos válidos}$</p> <p>Para o painel, definição da média máxima do score de irritação diário (MaxMIS).</p>

RESULTADOS

Checagem da compatibilidade cutânea

Nenhuma reação foi notada no sítio controle

Para o produto sob investigação:

Controle de tempo após remoção do apósito	Tipo de reação	Número de voluntários reativos	% de voluntários reativos	Score médio da irritação diária MDIS	Score médio máximo de irritação MaxMIS	Compatibilidade cutânea do produto
T30 minutos (D3)	Nenhum	0	0%	0	0	Muito boa

CONCLUSÃO

Sob as condições experimentais adotadas, única aplicação do produto **FGXK - C**, tal-qual, sob apósito semi-oclusivo, em um painel de 22 voluntários, com idade entre 25 e 54 anos, com fototipo de I a IV, não induziu reação de irritação significativa e o produto tem **muito boa compatibilidade cutânea**.

ANEXO III

AVALIAÇÃO EM HUMANOS DA AUSÊNCIA DO POTENCIAL COMEDOGÊNICO DE PRODUTO COSMÉTICO SOB CONDIÇÕES NORMAIS DE USO**ESTUDO SOB CONTROLE DERMATOLÓGICO
PREVIA DE ESTUDO****DELINEAMENTO GERAL DO ESTUDO*****Tipo de estudo***

Este estudo clínico monocêntrico é realizado em aberto, num painel de voluntários saudáveis.

Cada voluntário é o seu próprio controle.

Princípio do estudo

O produto sob investigação é aplicado sob condições normais de uso em domicílio, por 30 voluntários e por 28 dias consecutivos.

A ausência de potencial comedogênico é avaliada por exame visual da área experimental e pela contagem das lesões não inflamatórias e inflamatórias na área facial definida pelo Investigador ou pelo Pesquisador Responsável, no início do estudo e após a última aplicação do produto teste.

A aceitabilidade cutânea é verificada diariamente pelos próprios voluntários em seus domicílios e controlada após exame visual da área experimental pelo Investigador ou Pesquisador/Técnico, sob sua responsabilidade, e após questionário dirigido aos voluntários.

(continua)

Cronologia do estudo

Tabela 2. Distribuição da cronologia do estudo.

Tempos experimentais	Atividades
D1	No centro de investigação: Checagem dos critérios de inclusão e não inclusão. Exame clínico da pele e questionamento do voluntário pelo dermatologista. Demarcação dos sítios de avaliação e contagem dos comedões.
D28	No centro de investigação: Exame clínico da pele e questionamento do voluntário pelo dermatologista. Demarcação dos sítios de avaliação e contagem dos comedões.

Número de voluntários

Foram convidados a participar do estudo 36 voluntários do sexo feminino, com idades entre 18 e 40 anos, com fototipo entre II a IV, segundo classificação Fitzpatrick, pele com tendência a acne e usuários habituais de cosméticos. O uso de contracepção hormonal oral foi indicado por onze voluntários e os demais relataram outros métodos contraceptivos que não hormonais. Os voluntários que não faziam uso de contracepção hormonal apresentavam ciclo menstrual regular e denotaram este controle.

Do número inicial do painel, dois voluntários (18 e 34) não compareceram ao último agendamento e não retornaram às tentativas de contato telefônico, caracterizando abandono do estudo. Portanto os dados apresentados se referem às respostas em 34 voluntários.

Critérios de inclusão

Somente são incluídos no estudo os voluntários que atendem aos seguintes critérios:

- Idade de 18 a 40
- Sexo feminino
- Pele com tendência a presença de comedões (oleosa ou mista)
- Fototipo (Fitzpatrick) de I a IV
- Controle do ciclo menstrual ou usuárias de pílula anticoncepcional com exceção de Androcur, Diane 35 e Yasmin.
- Correspondendo à qualidade de "voluntário saudável"
- Tendo um plano de saúde
- Concordar em assinar o TCLE (termo de consentimento livre e esclarecido) para este estudo
- Declarando não fazer parte de outro estudo em outro centro de investigação
- Declarando a veracidade das informações pessoais fornecidas ao investigador
- Capaz de seguir as orientações e confiável no respeito às restrições do protocolo
- Disponível para comparecer ao centro de investigação em todas as visitas definidas no protocolo
- Sem histórico familiar de atopia e sem episódios recentes de dermatite atópica.

Critérios de não inclusão

Não são incluídos no estudo os voluntários com algum dos seguintes critérios:

(continua)

- Estando no período de exclusão
- Com histórico pessoal de reações adversas ao mesmo tipo de produto sob investigação
- Sob tratamento, antes do estudo ou prevendo iniciar durante o uso, capaz de interferir com a interpretação dos resultados do estudo.
- Grávidas ou amamentando
- Tendo recebido vacinação nas 2 semanas anteriores ao estudo ou com intenção de se vacinar durante o estudo
- Tratamento de acne ou seborréia a menos de 3 meses
- Tendo alterado o método contraceptivo a menos de 6 meses
- Previsão de iniciar ou alterar tratamento hormonal durante o estudo
- Tendo sido submetido a tratamento estético invasivo (peeling, laser) na região de uso do produto a menos de 2 meses do início do estudo ou intenção de iniciar tratamento durante o estudo
- Tendo sido exposto à radiação solar excessiva, natural ou artificial, a menos de 1 mês do início do estudo ou intenção de se expor durante o estudo
- Tendo sido submetido à depilação facial, a menos de 1 semana do início do estudo ou intenção de se submeter durante o estudo.

AVALIAÇÃO DA AUSÊNCIA DO POTENCIAL COMEDOGÊNICO

A contagem dos elementos não inflamatórios (comedões e microcistos) e inflamatórios (pápulas e pústulas) é realizada visualmente pelo mesmo investigador/dermatologista/técnico treinado sob luz do dia padronizada, no início, após sete dias e ao final do estudo. A área de análise se abrange por toda a face, com exceção do nariz (pirâmide nasal), borda dos lábios e arco do couro cabeludo.

Todos os números das lesões contados na face são registrados no caderno de investigação.

Os resultados são analisados estatisticamente por testes de hipóteses em dados pareados (teste T pareado) com nível de significância de 5% para declarar a diferença entre o conjunto de dados de antes e depois do período de uso.

Se o teste de hipótese não indica uma diferença estatística entre as contagens, o produto é considerado não comedogênico, ou seja, não altera significativamente as contagens de comedões, microcistos e acne em um grupo de voluntários.

(continua)

Avaliação da comedogenicidade

A soma das contagens individuais por voluntário são mostradas nos anexos deste relatório. As contagens são pareadas, cada par formado pela soma de contagens de um mesmo voluntário, e submetidas ao teste estatístico pareado de *student* (Teste T Pareado).

A tabela a seguir mostra a saída do teste estatístico:

Teste-t: duas amostras em par para médias

Soma das lesões não inflamatórias

	D1	D28
Média	9,70	9,39
Variância	28,47	42,75
Observações	33,00	33,00
Correlação de Pearson	0,58	
Hipótese da diferença de média	0,00	
gl	32,00	
Stat t	0,31	
P(T<=t) uni-caudal	0,38	
t crítico uni-caudal	1,69	
P(T<=t) bi-caudal	0,76	
t crítico bi-caudal	2,04	

Teste-t: duas amostras em par para médias

Soma das lesões inflamatórias

	D1	D28
Média	2,30	2,24
Variância	5,03	10,81
Observações	33,00	33,00
Correlação de Pearson	0,59	
Hipótese da diferença de média	0,00	
gl	32,00	
Stat t	0,13	
P(T<=t) uni-caudal	0,45	
t crítico uni-caudal	1,69	
P(T<=t) bi-caudal	0,90	
t crítico bi-caudal	2,04	

Teste-t: duas amostras em par para médias

Soma Total das Lesões

	D1	D28
Média	12	11,61
Variância	37,25	75,75
Observações	33	33
Correlação de Pearson	0,70	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	32	
Stat t	0,37	
P(T<=t) uni-caudal	0,36	
t crítico uni-caudal	1,69	
P(T<=t) bi-caudal	0,72	
t crítico bi-caudal	2,04	

(continua)

- **Lesões não inflamatórias**, segundo esta tabela, as médias de antes e depois do uso do produto não apresentaram variação no resultados em D1=9,70 a D28=9,39. Considerando que estes valores são muito próximos, portanto é um indicativo de não diferença estatística entre os conjuntos de dados. O valor de P bi-caudal é de 0,76 ($P \leq 0,05$), confirmando que não houve variação estatística justificativa dos conjuntos de dados, portanto não houve variação no número de lesões não inflamatórias antes e após o uso do produto.

- **Lesões Inflamatórias**, segundo esta tabela, as médias de antes e depois do uso do produto não apresentaram variação no resultados em D1=2,30 a D28=2,24. Considerando que estes valores são muito próximos, portanto é um indicativo de não diferença estatística entre os conjuntos de dados. O valor de P bi-caudal é de 0,90 ($P \leq 0,05$), confirmando que não houve variação estatística justificativa dos conjuntos de dados, portanto não houve variação no número de lesões inflamatórias antes e após o uso do produto.

- **Soma total das Lesões**, segundo esta tabela, as médias de antes e depois do uso do produto não apresentaram variação no resultados em D1=12,00 a D28=11,61. Considerando que estes valores são muito próximos, portanto é um indicativo de não diferença estatística entre os conjuntos de dados. O valor de P bi-caudal é de 0,72 ($P \leq 0,05$), confirmando que não houve variação estatística justificativa dos conjuntos de dados, portanto não houve variação no número da soma total das lesões antes e após o uso do produto.

CONCLUSÃO

Sob as condições experimentais adotadas e baseando-se nos resultados obtidos, pode-se concluir que o produto sob investigação:

- É considerado como "não comedogênico" uma vez que não afetou significativamente o número de lesões acneicas durante o uso.

ANEXO IV

Pesquisadora responsável: Profa Dra Patrícia M. B. G. Maia Campos (CRF: 11922)

Médico responsável: Dr. João Carlos Lopes Simão (CRM: 94214)

Pesquisadora principal: Jirrah Pedro de Andrade

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Meu nome é Jirrah Pedro de Andrade, sou pesquisadora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto e estou desenvolvendo a pesquisa “Desenvolvimento e eficácia clínica de dermocosméticos para a pele acneica contendo vitamina B3 e derivados de vitamina B6 e zinco”, onde serão avaliados os efeitos da aplicação de formulações cosméticas contendo formulação veículo com vitamina B3, derivado lipossolúvel de vitamina B6 e um sal de zinco (denominado PCA de zinco), na pele de 90 voluntárias, por métodos não invasivos.

Para tal, você comparecerá no laboratório de Tecnologia de Cosméticos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, onde serão realizadas, a partir de 20 minutos de aclimação em ambiente com controle de temperatura e umidade relativa do ar (20-22 °C e 45-55% respectivamente) medidas no tempo inicial para a obtenção dos valores basais, ou seja, antes da aplicação de qualquer formulação, após 2 horas de aplicação da formulação em estudo (para verificação dos efeitos imediatos) e ainda após 4 e 8 semanas de uso diário (duas vezes ao dia), determinando-se a perda de água (evaporação), quantidade de sebo na pele, hidratação, avaliação do micro relevo da pele, pH da pele, análise visual da pele por imagem de alta resolução e características celulares, sendo que, estes parâmetros irão nos mostrar como a formulação atuou na pele.

Para a realização das medidas serão utilizados equipamentos que avaliam a pele de maneira não invasiva, ou seja, sem causar corte, pois possuem sondas especiais, que são somente encostadas na pele durante a leitura não causando nenhuma lesão. Um possível desconforto que alguns dos equipamentos podem causar é uma leve pressão sobre pele, porém essa pressão é incapaz de causar dor e de alterar a integridade da mesma.

Inicialmente será realizado um estudo preliminar de eficácia, com a finalidade de escolher a formulação mais eficaz e para isso você comparecerá uma vez por mês, por um período de três meses. As formulações serão aplicadas no rosto, para a avaliação dos efeitos a curto e a longo prazo. Cada grupo de voluntárias receberá diferentes formulações: um grupo será o controle, ou seja, não receberá o tratamento, o segundo grupo será tratado com o veículo (formulação sem adição dos ativos), o terceiro grupo utilizará a formulação acrescida de vitamina B3; o quarto a formulação acrescida do derivado lipossolúvel da vitamina B6, o quinto grupo a formulação acrescida de PCA de zinco e o sexto grupo a formulação será acrescida dos três ativos associados.

Também será feito o estudo de eficácia para a verificação dos efeitos a curto e a longo prazo, apenas da formulação que se apresentar mais eficaz no estudo preliminar, sendo que você também comparecerá uma vez por mês, por um período de três meses. Para a realização desse estudo, vocês serão divididas em 3 grupos: um grupo receberá a formulação com o ativo ou os ativos que apresentarem melhor eficácia no primeiro estudo, outro grupo receberá o veículo (formulação sem adição dos ativos) e o terceiro grupo será o controle.

Para ambos os estudos de eficácia citados anteriormente, no estudo a longo prazo, você receberá uma embalagem cosmética contendo a formulação que será estudada. No rótulo da embalagem consta a região de aplicação da formulação (face), bem como a frequência e períodos de aplicação (duas vezes ao dia, durante 8 semanas). Na primeira visita, você será orientada quanto à quantidade de formulação que deverá ser aplicada durante o estudo, neste dia também serão agendadas as outras duas visitas (após 4 e 8 semanas).

Será realizada também a análise das características sensoriais das formulações, em que você, através do toque, sentirá a formulação sobre a pele, e a avaliação de percepção de eficácia, em que também através do toque, você sentirá os efeitos da formulação sobre a pele do rosto, após o período de 8 semanas. Estes estudos serão realizados através de questionários, sendo atribuídas notas. O tempo de preenchimento dos questionários será de 7 minutos.

Os efeitos esperados com o uso destas formulações é a diminuição da perda de água por evaporação, aumento da hidratação, redução do pH da pele e diminuição da acne. 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 a pesquisa será acompanhada 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) 3602-4307 ou no endereço: Avenida do Café s/n, Monte Alegre, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP.

(continua)

EU: _____,

R.G. nº: _____, abaixo assinado, acredito ter sido suficientemente esclarecido(a) sobre a pesquisa “Desenvolvimento e eficácia clínica de dermocosméticos para a pele acneica contendo vitamina B3 e derivados de vitamina B6 e zinco” 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