UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Avaliação histológica do tecido adiposo da pele de ratas sob
ação de cafeína e Cafeisilane[®] C**

Clara Tsugumi Nakamura Tano

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Maria Valéria Robles Velasco

São Paulo
2003

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Tano, Clara Tsugumi Nakamura
T167a Avaliação histológica do tecido adiposo da pele de ratas sob
ação de cafeína e Cafeisilane[®]C / Clara Tsugumi Nakamura
Tano. -- São Paulo, 2003.
143p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador: Velasco, Maria Valéria Robles

1. Emulsão cosmética : Cosméticos : Tecnologia 2. Gel :
Farmacotécnica 3. Celulite : Histologia humana 4. Tecidos :
Histologia animal I. T. II. Velasco, Maria Valéria Robles,
orientador.

668.55 CDD

Clara Tsugumi Nakamura Tano

**Avaliação histológica do tecido adiposo da pele de ratas sob a
ação da cafeína e Cafeisilane® C**

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof.^a Dr.^a Maria Valéria Robles Velasco
Orientadora/Presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Yoshikazu Nakamura (*in memoriam*) e Kazue Nakamura pelos seus ensinamentos e pela minha formação.

Ao meu querido esposo, Ronaldo Tano, pela sua compreensão, companheirismo e estímulo em todos os momentos.

Ao meu filhote, Henrique Yoshiki Nakamura Tano, que desde a gestação acompanhou o meu mestrado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por todas as conquistas e realizações.

À minha mãe, meu agradecimento especial por ter cedido seu tempo para cuidar do Henrique e assim conseguir realizar o mestrado com mais tranquilidade.

Ao meu esposo, Ronaldo Tano, pela paciência, incentivo e estímulo, nos momentos mais difíceis.

À minha irmã, Fânia Ossami Nakamura, pelo grande interesse e incentivo para realização desse trabalho.

À prof.^a Maria Valéria Robles Velasco (FCF) pela paciente e meticulosa orientação, motivando nos momentos difíceis e acreditando nesse trabalho em todas as suas etapas.

À prof.^a Gláucia Maria Machado Santelli (ICB) por ter me recebido em seu laboratório e fornecido sugestões valiosas para a realização desse trabalho.

À banca examinadora da qualificação Prof.^a Vladi Olga Consiglieri e Prof.^a Vera Lucia Borges Isaac Rangel pelo esmerado empenho, valiosas sugestões e contribuições científicas.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP), pela minha formação e amadurecimento desde a graduação, despertando o interesse pela pesquisa.

Às estagiárias Camila Marcondes, Livia Costantini Patrício e Priscila Uchida pela enorme ajuda que prestaram para a realização desse trabalho.

Aos técnicos do laboratório Claudinéia Aparecida Sales de Oliveira e Carla Aparecida Gonçalves dos Santos (FCF) e Raphael Adolfo de Santanna Ferreira (ICB).

À funcionária do biotério D. Nancy de Queiroz Silva pela ajuda e apoio na manipulação dos animais.

Ao André Rolim pelo auxílio na revisão e correção do abstract.

Aos funcionários da FCF Leila Aparecida Bonadio, Elizabeth Claro de Souza Paiva, Jorge Alves de Lima e Elaine Midori Ychico.

À diretoria da Natural Corporation do Brasil e Naturally Anew, por ter permitido o meu afastamento durante o período das disciplinas para a realização desse trabalho.

As empresas IONQUÍMICA, POLYTECHNO, CRODA, BASF, CHEMYUNION, DOW CORNING, UNION CARBIDE, ISP, AMERCHOL, pelo fornecimento de matérias-primas e literaturas fundamentais para a realização desse trabalho.

A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Å: 1Å (angstrom) = 10^{-10} m

cm: 1×10^{-2} m

mm: 1×10^{-3} m

µm: 1×10^{-6} m

L: 1×10^{-3} m³

mL: 1×10^{-3} L

kg: 1×10^3 g

g: 1×10^{-3} kg

mg: 1×10^{-3} g

µg: 1×10^{-6} g

kcal: 1×10^3 cal

cal: 1×10^{-3} kcal

Acil-CoA: coenzima A

ACTH: corticotropina

AMP: adenosina monofosfato

AMP_C: adenosina monofosfato cíclico

ATP: adenosina trifosfato

cP: centipoises

DNA: ácido desoxirribonucléico

EDTA: ácido etilenodiaminotetracético (ácido edético)

EDTA dissódico: etilenodiaminotetracetato de sódio (edetato dissódico)

FDA: Food and Drug Administration

GH: hormônio do crescimento

Gi: proteína membranária inibitória

Gs: proteína membranária estimulante

HE: hematoxilina e eosina

O/A: óleo em água

p/p: peso/peso

q.s.: quantidade suficiente

q.s.p.: quantidade suficiente para

RNA: ácido ribonucléico

SPF: livre de patógenos específicos

T₃: triiodotironina

T₄: tetraiodotironina

TSH: hormônio tirotrópico

SW/FCFIQ: Swiss Webster/Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Instituto de Química da Universidade de São Paulo

U.S.P.: United States Pharmacopeia

RELAÇÃO DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação esquemática da pele	8
Figura 2 -	Biossíntese dos triglicerídeos	18
Figura 3 -	AMPC e lipólise	19
Figura 4 -	Receptores adrenérgicos e lipomobilização	21
Figura 5 -	Receptores e lipólise	23
Figura 6 -	Disposição dos lóbulos graxos na mulher	25
Figura 7 -	Disposição dos lóbulos graxos no homem	25
Figura 8 -	Fórmula estrutural da cafeína	41
Figura 9 -	Equipamentos e acessórios utilizados em morfometria	54
Figura 10-	Representação esquemática do dorso da rata submetida à aplicação de emulsão	73
Figura 11 -	Representação esquemática do dorso da rata submetida à aplicação de gel	73
Figura 12 -	Variação do valor de pH/pHi (emulsão)	85
Figura 13 -	Variação do valor de pH/pHi (emulsão).....	86
Figura 14 -	Variação do valor de pH/pHi (gel)	92
Figura 15 -	Variação do valor de pH/pHi (gel)	93
Figura 16 -	Representação gráfica da redução do diâmetro de células em relação à emulsão controle	107
Figura 17 -	Representação gráfica da redução do número de células adiposas tratadas com emulsão com substâncias ativas em relação à emulsão controle	108
Figura 18 -	Representação gráfica da redução do diâmetro e número de células adiposas tratadas com emulsão com cafeína em relação à emulsão com cafeína + benzoato de sódio ...	109
Figura 19 -	Representação gráfica da redução do diâmetro de células adiposas tratadas com os géis com as substâncias ativas em relação ao gel controle	116

Figura 20 -	Representação gráfica da redução do número das células adiposas tratadas com géis com substâncias ativas em relação ao gel controle	117
Figura 21 -	Representação gráfica da redução do diâmetro e número de células adiposas tratadas com gel com cafeína em relação ao gel com cafeína + benzoato de sódio	118
Figura 22 -	Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com emulsão controle da rata de número 4	122
Figura 23 -	Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com a emulsão com Cafeisilane [®] C 6,0% p/p da rata de número 4	122
Figura 24 -	Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com a emulsão com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p da rata de número 4	123
Figura 25 -	Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com a emulsão com cafeína 4,0% p/p da rata de número 4	123
Figura 26 -	Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com gel controle da rata de número 8	124
Figura 27 -	Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com gel com Cafeisilane [®] C 6,0% p/p da rata de número 8	124
Figura 28 -	Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com gel de cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p da rata de número 8	125
Figura 29 -	Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com o gel com cafeína 4,0% p/p da rata de número 8	125

RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição percentual das emulsões propostas (1-9)	60
Tabela 2 -	Composição percentual dos géis propostos (1-4)	62
Tabela 3 -	Avaliação das características organolépticas das emulsões nos testes preliminares de estabilidade	79
Tabela 4 -	Avaliação das características organolépticas dos géis nos testes preliminares de estabilidade	81
Tabela 5 -	Resultados do teste de estabilidade acelerada das emulsões 1A, 2A, 3A e 7A	83
Tabela 6 -	Resultados do teste de estabilidade acelerada das emulsões 1B, 2B, 3B e	84
Tabela 7 -	Resultado do teste de estabilidade acelerada dos géis 1A, 2A, 3A e 4A	90
Tabela 8 -	Resultado do teste de estabilidade acelerada dos géis 1B, 2B, 3B e 4B	91
Tabela 9 -	Avaliação físico-química das emulsões controle, com cafeína, com cafeína + benzoato de sódio e com Cafeisilane [®] C, durante estudo de estabilidade acelerada	98
Tabela 10 -	Avaliação físico-química dos géis controle, com cafeína, com cafeína + benzoato de sódio e com Cafeisilane [®] C, durante estudo de estabilidade acelerada	99
Tabela 11 -	Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região controle (sem substância ativa) de ratas de números 1 a 10	102
Tabela 12 -	Contagem das células adiposas na região controle (sem substância ativa) das ratas de número 1 a 10 que receberam tratamento com emulsão controle, a partir de 3 imagens de cortes verticais	103

Tabela 13 -	Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com emulsão com cafeína 4,0% p/p das ratas de números 1 a 10	104
Tabela 14 -	Contagem das células adiposas na região tratada com emulsão com cafeína 4,0% p/p das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais	104
Tabela 15 -	Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com emulsões com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p, das ratas de números 1 a 10	105
Tabela 16 -	Contagem das células adiposas na região tratada com emulsão com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais	105
Tabela 17 -	Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com emulsões com Cafeisilane [®] C 6,0% p/p das ratas de números 1 a 10	106
Tabela 18 -	Contagem das células adiposas na região tratada com emulsão com Cafeisilane [®] C 6,0% p/p das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais	106
Tabela 19 -	Razão entre os valores de diâmetro das células adiposas das regiões tratadas com emulsões em relação ao controle	107
Tabela 20 -	Razão entre os valores do número de células adiposas das regiões tratadas com emulsões em relação ao controle	108

Tabela 21 -	Razão entre os valores de diâmetro e número de células adiposas, das regiões tratadas com emulsão com cafeína em relação a região tratada com emulsão com cafeína + benzoato de sódio	109
Tabela 22 -	Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região controle do gel das ratas de números 1 a 10	110
Tabela 23 -	Contagem das células adiposas na região controle de gel das ratas de número 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais	111
Tabela 24 -	Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região controle do gel das ratas de números 1 a 10	112
Tabela 25 -	Contagem das células adiposas na região tratada com gel de cafeína 4,0% p/p das ratas de número 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais	112
Tabela 26 -	Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com géis de cafeína + benzoato de sódio, ambos a 4,0% p/p, das ratas de números 1 a 10	113
Tabela 27 -	Contagem das células adiposas na região tratada com gel de cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p das ratas de número 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais	114
Tabela 28 -	Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com géis de Cafeisilane [®] C 6,0% p/p, das ratas de números 1 a 10	114
Tabela 29 -	Contagem das células adiposas na região tratada com gel de Cafeisilane [®] C 6,0% p/p, das ratas de número 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais	115

Tabela 30 -	Razão entre os valores de diâmetro das células adiposas das regiões tratadas com gel em relação ao controle	115
Tabela 31 -	Razão entre os valores de número de células adiposas das regiões tratadas com gel em relação ao controle	116
Tabela 32 -	Razão entre os valores de diâmetro e número de células adiposas, das regiões tratadas com gel com cafeína em relação a região tratada com gel cafeína + benzoato de sódio	117

RELAÇÃO DE QUADROS

Quadro 1 -	Estudo crítico dos componentes da emulsão	61
Quadro 2 -	Estudo crítico dos componentes dos géis	63
Quadro 3 -	Critérios para identificação do aspecto	69

RESUMO

Hidrolipodistrofia ginóide é uma alteração genuína e loco-regional do panículo adiposo subcutâneo determinante do formato corporal característico da mulher. Várias substâncias ativas podem ser empregadas como anticelulíticos, sendo selecionado para esse trabalho a cafeína e o silício orgânico da cafeína (Cafeisilane[®] C). Foram desenvolvidas formulações cosméticas (9 emulsões empregando como base cera emulsionante não iônica e 3 géis utilizando polímero carboxivinílico e 1 gel a base de hidroxietilcelulose) contendo cafeína 4,0% p/p; cafeína e benzoato de sódio, ambos a 4,0% p/p e Cafeisilane[®] C 6,0% p/p e, as mesmas foram submetidas ao estudo de estabilidade acelerada nas seguintes condições: 4° C, ciclos alternados gela/degela (-10° C/45° C), 45° C, -10° C, 22° C e luz solar indireta. Das formulações avaliadas foram selecionadas uma emulsão não iônica e um gel de hidroxietilcelulose para o estudo “in vivo” em modelo animal, a fim de avaliar a ação lipolítica da cafeína e Cafeisilane[®] C. Após análise histológica do dorso depilado das ratas de linhagem Wistar, tanto a cafeína como o Cafeisilane[®] C apresentaram melhor resposta quando incorporados em emulsão não iônica, ocorrendo redução no diâmetro das células adiposas em 17% para a cafeína e 16% para o Cafeisilane[®] C. Nesta última preparação, também ocorreu redução de 32% no número de células adiposas. Da forma cosmética gel, apenas o que utilizou como base a hidroxietilcelulose com Cafeisilane[®] C promoveu redução de 26% no número de adipócitos quando comparado com o gel controle.

ABSTRACT

Gynoid hydrolipodystrophy is a genuine and regional alteration of the hypodermis, a subcutaneous tissue that determines the characteristic format of the female's body. Several active substances can be added in anticellulite cosmetics and in this research there were selected caffeine and siloxanetriol alginate caffeine (Cafeisilane[®] C). There were developed different cosmetic formulations (9 emulsions with nonionic emulsifying wax, 3 gels with carboxyvinilic polymer and 1 gel with hydroxyethyl cellulose) employing caffeine 4,0% w/w; caffeine and sodium benzoate, both 4,0% w/w, and Cafeisilane[®] C 6,0% w/w. Formulations above were submitted to the stress testing: 4° C, alternate freeze/thaw cycles (-10° C/45° C), 45° C, -10° C, 22° C and indirect sunlight, as the conditions. We selected one nonionic emulsion and the hydroxyethyl cellulose gel for the *in vivo* study in animal model for the evaluation of the lypolitic activity of caffeine and Cafeisilane[®] C. After histological analysis of Wistar's depilated back (female rats), as much caffeine as Cafeisilane[®] C resulted better answers when incorporated in nonionic emulsion, with diameter reduction of the fatty cells in 17% for caffeine and 16% for Cafeisilane[®] C. Within the Cafeisilane[®] C emulsion, reduction of 32% in the number of fatty cells occurred. Only hydroxyethyl cellulose gel with Cafeisilane[®] C promoted the reduction of 26% in the adipocytes numbers, when compared with the control gel.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	4
2	OBJETIVOS	6
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	7
3.1	Pele.....	7
3.1.1	Epiderme	8
3.1.2	Derme.....	9
3.1.2.1	Glândulas da pele.....	11
3.1.2.2	Pêlo	13
3.1.2.3	Unhas	13
3.1.3	Hipoderme	13
3.1.3.1	Tecido adiposo	14
3.1.3.2	Receptores adrenérgicos e lipomobilização	21
3.2	Celulite	24
3.2.1	Introdução.....	24
3.2.2	Tratamento	30
3.2.2.1	Abordagem cosmética	30
3.2.2.2	Tratamento físico por ações mecânicas	34
3.2.2.3	Tratamento físico por radiações eletromagnéticas	35
3.2.2.4	Outros métodos terapêuticos.....	37
3.3	Cafeína	40
3.3.1	Fonte e histórico.....	40
3.3.2	Características físicas e químicas	41
3.3.3	Mecanismo de ação	41
3.3.4	Efeitos tóxicos	43
3.3.5	Concentração de uso da cafeína.....	43
3.4	Cafeisilane® C.....	44
3.4.1	Características físicas e químicas	44
3.4.2	Aplicação cosmética.....	44
3.4.3	Atividade lipolítica e anticelulítica	45
3.5	Formas cosméticas tópicas	45
3.5.1	Introdução.....	45
3.6	Estabilidade de produtos cosméticos.....	48
3.7	Histologia e seus métodos de estudo.....	49
3.7.1	Introdução.....	49
3.7.2	Preparação dos tecidos na microscopia óptica	50
3.7.2.1	Fixação.....	50
3.7.2.2	Desidratação e Clarificação.....	51

3.7.2.3	Impregnação.....	51
3.7.2.4	Microtomia	52
3.7.2.5	Montagem e Coloração	52
3.8	Morfometria	53
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	55
4.1	Material	55
4.1.1	Matérias - primas.....	55
4.1.1.1	Grau de pureza analítico (P.A.)	55
4.1.1.2	Grau de pureza farmacêutico	56
4.1.2	Equipamentos.....	57
4.1.3	Vidrarias e outros materiais	58
4.1.4	Animais de laboratório.....	58
4.1.5	Formulações propostas	59
4.2	Métodos	64
4.2.1	Escolha da concentração dos componentes ativos e coadjuvantes 64	
4.2.2	Emulsões.....	64
4.2.2.1	Preparo.....	64
4.2.2.2	Testes preliminares de estabilidade	65
4.2.3	Géis.....	66
4.2.3.1	Preparo.....	66
4.2.3.2	Testes preliminares de estabilidade	67
4.2.4	Teste de estabilidade acelerada (TEA)	67
4.2.4.1	Condições do teste.....	68
4.2.4.2	Variáveis analisadas.....	68
4.2.5	Seleção das formulações	69
4.2.6	Emulsão	70
4.2.6.1	Testes preliminares de estabilidade	70
4.2.7	Gel.....	70
4.2.7.1	Testes preliminares de estabilidade	70
4.2.8	Teste de estabilidade acelerada (TEA) para as emulsões e géis...70	
4.2.8.1	Condições do teste.....	70
4.2.8.2	Variáveis analisadas.....	71
4.2.9	Avaliação histológica da pele dos animais	72
4.2.9.1	Tratamento dos animais de experimentação com as formulações escolhidas	72
4.2.9.2	Preparo das lâminas histológicas	73
4.2.9.3	Leitura das lâminas	75
4.2.9.4	Análise estatística.....	76
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	77

5.1 Escolha da concentração dos componentes ativos e coadjuvantes.....	77
5.2 Emulsões	78
5.2.1 Testes preliminares de estabilidade	78
5.3 Géis	80
5.3.1 Testes preliminares de estabilidade	80
5.4 Teste de estabilidade acelerada (TEA).....	82
5.5 Seleção das formulações	95
5.5.1 Emulsão	96
5.5.1.1 Testes preliminares de estabilidade das emulsões	96
5.5.2 Gel.....	96
5.5.2.1 Testes preliminares de estabilidade dos géis	96
5.6 Teste de estabilidade acelerada para as emulsões e géis	96
5.7 Avaliação histológica após aplicação das formulações	102
5.7.1 Emulsão controle.....	102
5.7.2 Emulsão com cafeína 4% p/p	103
5.7.3 Emulsão com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p	105
5.7.4 Emulsão com Cafeisilane® C 6% p/p	106
5.7.5 Gel controle	110
5.7.6 Gel com cafeína 4% p/p	111
5.7.7 Gel com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p	113
5.7.8 Gel com Cafeisilane® C 6,0% p/p.	114
5.7.9 Fotomicrografias de cortes verticais de pele de ratas da região controle e tratadas com emulsões e géis.	121
6 CONCLUSÕES	127
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129

1 INTRODUÇÃO

A busca da beleza sempre foi e será a grande procura do ser humano, que por meio da arte, encontrou formas de expressá-la e perpetuá-la.

No século XVII o ideal da beleza feminina era representado pelo excesso de peso com nítida presença de celulite, como retratou o pintor Peter Paul Rubens, em “as Três Graças”. Porém, no final do segundo milênio até a atualidade, esse conceito de beleza mudou totalmente. A presença de tecido adiposo é pouco aceita e dentre suas irregularidades, a celulite é o “pavor” das mulheres modernas.

A celulite ou hidrolipodistrofia ginóide é uma alteração genuína e loco-regional do panículo adiposo subcutâneo determinante do formato corporal característico da mulher, com perda do equilíbrio histofisiológico local (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992). Está presente em cerca de 80 a 90% das mulheres ocidentais, aparecendo cada vez mais cedo, atingindo jovens e adolescentes, e não respeitando as mulheres magras. Tanto assim, que alguns autores consideram-na um atributo próprio do sexo e não um estado patológico. Produz mudanças estruturais na imagem física, acarretando não apenas transtornos orgânicos graves, mas também alteração da auto-estima da paciente devido a mudanças exteriores que se manifestam como futura doença (GERSMAN et al., 1996).

Mecanismos patogênicos básicos na formação de celulite envolvem: distúrbio no metabolismo da gordura, colapso na microcirculação e acúmulo de fluido no tecido (SMITH, W.P., 1995; VIDA KOVIC, N. et al, 2000).

O conceito de tratamento cosmético da celulite inclui aplicação tópica de produtos cuja eficiência é baseada na atividade de certas substâncias ativas de ação anticelulítica, como vasoprotetores, antiinflamatórios, estimuladores da microcirculação periférica, agentes lipolíticos. Estes compostos ativos são incorporados em emulsões e géis e, através da massagem local, a penetração e permeação são facilitadas.

Nas clínicas de estética são muito utilizados os tratamentos físicos por ações mecânicas e por radiações eletromagnéticas como jato de ar térmico, aerohidroterapia, vacuoterapia (endermólise), raios ultravioletas, infravermelho, correntes galvânica e farádica (MAGALHÃES, 2000; NATURALE, 2002).

Derivados de xantinas são geralmente utilizados devido sua ação lipolítica e, nesta categoria, a cafeína é considerada o agente mais potente, pois promove a lipólise pela estimulação dos receptores beta-adrenérgicos na superfície dos adipócitos, assim inibe a fosfodiesterase responsável em transformar APMc em AMP. Esta reação em cadeia de mobilização de triglicerídeos por xantinas proporciona uma transformação local de triglicerídeos em ácidos graxos livres e glicerol, seguida pela sua eliminação pelo sistema linfático (ACCURSIO, 1999; BUSCAGLIA, 1996; CHARASSE, 1993; DRAELOS, 1996).

Neste trabalho foram escolhidos a cafeína e o Cafeisilane® C como substâncias ativas de formulações cosméticas para o tratamento da celulite. O silício orgânico estimula a lipólise através da estimulação do AMPc, potencializando a ação lipolítica da cafeína (CAFEISILANE® C, s/d; EXSYMOL, s/d; EXSYMOL, 2003; CORRÊA, 2002).

Foram avaliadas formulações de emulsão e gel e submetidas ao estudo de estabilidade acelerada, selecionando-se as de melhor desempenho para a aplicação tópica em ratas obesas de linhagem Wistar, por 21 dias.

A captação de imagens e quantificação das células adiposas foi realizada empregando-se o software Axio Vision e KS 300.

A metodologia utilizada abre caminhos para novas pesquisas dentro da Cosmetologia para comprovar a eficácia das substâncias utilizadas nas formulações cosméticas.

2 OBJETIVOS

- ❑ Desenvolver e submeter ao estudo de estabilidade acelerada as formulações cosméticas empregadas na ação contra a hidrolipodistrofia ginóide (celulite), como: emulsão e gel, contendo cafeína e Cafeisilane[®] C.
- ❑ Analisar quali e quantitativamente as alterações histológicas no tecido adiposo provocadas pelo uso das formulações desenvolvidas, comparando a ação lipolítica da cafeína e Cafeisilane[®] C.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Pele

A pele que recobre o corpo é um de seus maiores órgãos, constituindo cerca de 16% do peso corporal. Possui diversas funções importante; como barreira protetora do organismo contra lesões e dessecação (perda por evaporação). Além disso, por meio de suas terminações nervosas, está em comunicação constante com o meio ambiente. A pele também colabora na manutenção da temperatura corporal, devido ao grande número de vasos que a irriga e pela produção e excreção de suor nas glândulas sudoríparas. Além de ajudar na regulação da temperatura, o suor é também veículo para excreção de diversas substâncias. A melanina, pigmento produzido e acumulado na epiderme, oferece proteção contra os raios ultravioleta.

Este órgão possui também importante papel nas respostas imunológicas do organismo, devido à presença de linfócitos na derme e de células apresentadoras de antígenos na epiderme.

Podemos considerar a pele dividida em três camadas: a epiderme, a derme e a hipoderme (**Figura 1**). O limite entre a derme e a epiderme não é regular, mas caracteriza-se pela presença de saliências e reentrâncias das duas camadas que se imbricam e se ajustam entre si. As projeções da derme recebem o nome de papilas dérmicas.

Na pele, observam-se, ainda, várias estruturas anexas, como: pêlos, unhas, glândulas sudoríparas e sebáceas (BARRY, 1983; GARTNER & HIATT, 1999; GLICK & YUSPA, 1997; HERNANDEZ & MERCIER-FRESNEL, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; PEYREFITTE et al., 1998; PRISTA et al., 1992b; ROSSI et al., 1993; VIGLIOGLIA & RUBIN, 1989; WILKINSON & MOORE, 1990; YOUNG & HEATH, 2001).

Figura 1 - Representação esquemática da pele (GARTNER & HIATT, 1999).

3.1.1 Epiderme

A epiderme é a mais externa das camadas da pele, constituída por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, de origem ectodérmica. É formada pelas camadas basal, germinativa, granulosa, lúcida e córnea.

A camada córnea representa uma região importante no controle da absorção cutânea de substâncias ativas. A permeabilidade seletiva desta estrutura apresenta-se como tema central em muitos aspectos efetivos de substâncias ativas de uso tópico. O estrato córneo é levemente permeável à água. Possui função de barreira, fornecendo proteção física e química

(BENY, 2000; HERNANDEZ & MERCIER-FRESNEL, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; PRISTA et al., 1992b; ROSSI et al., 1993).

Além desse epitélio, que ocupa a maior parte desta camada da pele, a epiderme apresenta ainda três tipos de células: os melanócitos, as células de Langerhans e as células de Merkel (HERNANDEZ & MERCIER-FRESNEL, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; WILKINSON & MOORE, 1990).

As células de Langerhans fazem parte do sistema imunológico, podendo processar e acumular na sua superfície os antígenos cutâneos, apresentando-os aos linfócitos (BENY, 2000; HERNANDEZ & MERCIER-FRESNEL, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; PEYREFITTE et al., 1998; WILKINSON & MOORE, 1990).

As células de Merkel caracterizam-se principalmente pela presença de grânulos citoplasmáticos elétron-densos com 80 nm de diâmetro (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; PEYREFITTE et al., 1998; PRISTA et al., 1992b; WILKINSON & MOORE, 1990).

A cor da pele resulta de uma série de fatores, entre os quais a quantidade de melanina (produzida pelos melanócitos), de caroteno, de capilares da derme e da cor do sangue destes (CÉSARINI, 1994; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b).

3.1.2 Derme

É o tecido conjuntivo sobre o qual se apóia a epiderme. Sua superfície externa é extremamente irregular, observando-se saliências que acompanham as reentrâncias correspondentes da epiderme. A essas saliências deu-se o nome de papilas dérmicas, mais freqüentes nas regiões sujeitas às pressões ou atritos (GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; ROSSI et al., 1993; WILKINSON & MOORE, 1990).

A derme é constituída de tecido conjuntivo denso, não modelado, que contém principalmente fibras colágenas tipo I e rede de fibras elásticas, que sustentam a epiderme e ligam a pele à hipoderme subjacente (GARTNER &

HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; WILKINSON & MOORE, 1990).

Existem na derme duas camadas: a *papilar*, delgada, que apresenta fibras especiais de colágeno e cuja função é unir a derme à epiderme e a *reticular*, mais espessa, possui muitas fibras colágenas e alcança 75% do peso seco e 18-30% do volume da derme. Ambas camadas contêm muitas fibras elásticas, responsáveis pela elasticidade da pele e constituindo 4% do peso seco e 1% do volume da derme (GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; PEYREFITTE et al., 1998; WILKINSON & MOORE, 1990).

A **camada papilar** é irregular na região de contato com a epiderme, formando as cristas dérmicas (papilas). É formada de um tecido conjuntivo frouxo, cujas fibras colágenas tipo III (fibras reticulares) e fibras elásticas estão organizadas em redes frouxas. Fibrilas de ancoragem, constituídas de colágeno tipo VII, estendem-se da lâmina basal até a camada papilar, ligando a epiderme à derme. A camada papilar contém fibroblastos, macrófagos e outras células habituais do tecido conjuntivo. Além disso, possui muitas alças capilares, que se estendem até a interface epiderme-derme e que são responsáveis pela regulação da temperatura corporal e nutrição das células da epiderme avascular (FONSECA & SOUZA, 1984; GARTNER & HIATT, 1999; SAMPAIO et al., 1985).

A **camada reticular** é constituída de tecido conjuntivo denso, apresentando fibras colágenas tipo I, que estão agrupadas em grandes feixes situados, na sua maioria, paralelamente à superfície da pele. São encontradas redes de fibras elásticas espessas entrelaçadas com as fibras colágenas, abundantes próximos às glândulas sebáceas e sudoríparas. Proteoglicanas, ricas em dermatan-sulfato, preenchem os interstícios da camada reticular. Elas incluem fibroblastos, mastócitos, linfócitos, macrófagos e, freqüentemente, células adiposas nas regiões mais profundas da camada reticular (FONSECA & SOUZA, 1984; GARTNER & HIATT, 1999; SAMPAIO et al., 1985).

As glândulas sudoríparas, as glândulas sebáceas e os folículos pilosos, todos derivados da epiderme, invadem a derme e a hipoderme durante a embriogênese, onde permanecem de forma definitiva. Grupos de células musculares lisas estão localizados nas regiões mais profundas da camada reticular em locais definidos, tais como a pele do pênis e do escroto e a aréola ao redor do mamilo. Outros músculos lisos, denominados músculos eretores dos pêlos, inserem-se nos folículos pilosos; as contrações destes músculos provocam a ereção dos pêlos quando o corpo está frio. Além disso, um grupo particular de músculos estriados localizados na face, em partes da região anterior do pescoço e no couro cabeludo (músculo da expressão facial), origina-se na fácia superficial e se insere na derme.

Pelo menos dois tipos de mecanorreceptores estão localizados nas regiões mais profundas da derme; corpúsculos de Pacini, que respondem a pressão e vibrações, e corpúsculos de Ruffini, que respondem a forças de tensão (FONSECA & SOUZA, 1984; GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; SAMPAIO et al., 1985).

3.1.2.1 Glândulas da pele

3.1.2.1.1 Glândulas sudoríparas écrinas

Localizam-se na pele de quase todo o corpo, excetuando-se certas regiões, como a glândula. A maior parte da porção secretora encontra-se na derme e mede aproximadamente 0,4 mm de diâmetro. São glândulas tubulosas simples enoveladas, localizadas profundamente na derme ou na hipoderme subjacente. Seguindo-se à porção secretora da glândula, existe um **ducto** delgado, enovelado, que atravessa a derme e a epiderme, para se abrir na superfície da pele num **poro**. Ao atingir a superfície da pele, o suor secretado por essas glândulas evapora-se, diminuindo a temperatura corporal. As glândulas écrinas são inervadas por fibras colinérgicas (AGACHE et al., 1994; GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b).

3.1.2.1.2 Glândulas sudoríparas apócrinas

São maiores do que as glândulas sudoríparas écrinas, (3 a 5 mm) e encontradas nas axilas, na aréola do mamilo e na região anal. As glândulas sudoríparas apócrinas modificadas constituem as **glândulas ceruminosas (cera)** do conduto auditivo externo e as **glândulas de Moll** nas pálpebras.

Os ductos das glândulas apócrinas são semelhantes aos das glândulas sudoríparas, mas em vez de se abrirem na superfície da pele, desembocam sempre num folículo piloso. As glândulas apócrinas situam-se na hipóderme. A luz de suas partes secretoras é muito dilatada. A secreção destas glândulas é ligeiramente viscosa e sem cheiro, mas adquire um odor desagradável e característico pela ação das bactérias da pele (AGACHE et al., 1994; GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; ROSSI et al., 1993).

3.1.2.1.3 Glândulas sebáceas

São encontradas por todo o corpo, mergulhadas na derme e na hipóderme, com exceção das regiões palmares e plantares e das regiões laterais dos pés, abaixo da linha dos pêlos. Estas glândulas são mais abundantes na face, no couro cabeludo e na testa. O produto de secreção das glândulas sebáceas, o **sebo**, é uma mistura semelhante à cera formada por colesterol e triglicerídeos e parece contribuir para a manutenção da textura da pele e da flexibilidade dos pêlos.

Assim como as glândulas sudoríparas apócrinas, as glândulas sebáceas são apêndices dos folículos pilosos. Os ductos das glândulas sebáceas se abrem no terço superior do canal folicular, onde lançam seu produto de secreção (AGACHE et al., 1994; GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; ROSSI et al., 1993).

3.1.2.2 Pêlo

Os pêlos são estruturas filamentosas, queratinizadas, que se projetam da superfície epidérmica da pele. Os pêlos crescem sobre a maior parte do corpo, exceto na zona vermelha dos lábios, nas palmas e lados das mãos, nas solas e laterais dos pés, no dorso das falanges distais dos dedos e artelhos, na glândula do pênis e do clitóris, nos pequenos lábios e no lado vestibular dos grandes lábios.

Existem dois tipos de pêlos no corpo humano. Os pêlos fracos, delgados, pequenos e claros, denominados **velos** (do latim: lã de carneiro); os fortes, espessos, longos, grosseiros e escuros, chamados **terminais** (GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; ROSSI et al., 1993).

3.1.2.3 Unhas

As unhas, localizadas na região distal da falange de cada dedo e artelho, são constituídas por placas de células epiteliais altamente queratinizadas e fortemente compactadas, denominadas de **placas ungueais**, localizadas na epiderme, conhecidas como **leitos ungueais**. As unhas se desenvolvem a partir de células da **matriz da unha**, que proliferam e se tornam queratinizadas (GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; ROSSI et al., 1993).

3.1.3 Hipoderme

A hipoderme ou tecido subcutâneo é a camada mais profunda da pele. É formada por tecido conjuntivo frouxo, que une de maneira pouco firme a derme aos órgãos subjacentes (PEYREFITTE et al., 1998).

A composição da hipoderme é hidrolipídica: 85% de componentes graxos (contém 98% triglicerídeos, 2% de colesterol e poucos ácidos graxos livres) e 15% de água sendo que 2/3 são extracelulares.

Dependendo da região em estudo e do grau de nutrição do organismo, a hipoderme poderá ter uma camada variável de tecido adiposo que, ao se desenvolver formará o panículo adiposo que proporciona proteção contra o frio e contra choques mecânicos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; RANGEL, 1998; ROSSI et al., 1993).

3.1.3.1 Tecido adiposo

O tecido adiposo é longe de ser um tecido estático, pois as reservas lipídicas se renovam em permanência, sinal de um metabolismo celular especialmente ativo, o que induz um “turn over” rápido dos lipídios. Este metabolismo comporta 3 fases: a lipogênese, o armazenamento de lipídios sob a forma de triglicerídeos e a lipólise. São atribuídos vários papéis a este tecido: termogênese, isolamento térmico e mecânico, e por suposta produção e armazenamento de energia (EXSYMOL, s/d).

A maioria dos tecidos de sustentação contém células adaptadas ao armazenamento de gordura, denominadas de adipócitos, que se originam do mesênquima primitivo, onde se desenvolvem como lipoblastos. Os adipócitos são encontrados isolados ou em aglomerados por todos os tecidos de sustentação frouxos ou podem constituir o tipo celular principal, como no tecido adiposo. (YOUNG & HEATH, 2001).

Há dois tipos principais de tecido adiposo:

Tecido adiposo branco: constitui 20% do peso corporal total em pessoas bem-nutridas normais adultas do sexo masculino e até 25% nas do sexo feminino. Distribui-se em todo corpo, particularmente nas camadas profundas da pele. Além de ser uma reserva de energia, atua como isolante térmico sob a pele e funciona como uma almofada contra choques mecânicos em alguns sítios, como em torno dos rins. Apresentam-se como

células com uma gotícula lipídica grande e única, chamadas células adiposas uniloculares.

Tecido adiposo pardo: é encontrado nos mamíferos recém-nascidos e em alguns animais hibernantes, onde desempenha parte importante da regulação da temperatura corporal. Apresenta-se como células com gotículas lipídicas pequenas e múltiplas, denominadas células adiposas multiloculares (GARTNER & HIATT, 1999; YOUNG & HEATH, 2001).

O envolvimento do tecido adiposo excede os limites da celulite, pois sabe-se que é o primeiro local de armazenamento do colesterol no organismo sob a forma não esterificada, e possui papel importante no metabolismo do colesterol.

Os adipócitos são células grandes vacuolizadas, quase inteiramente preenchidos com triglicerídeos e estão reagrupados em lóbulos delimitados com degraus conjuntivo-vasculares.

Na mulher, estas divisórias são verticais e perpendiculares nos planos aponeuróticos, enquanto que nos homens, dispõem-se de maneira oblíqua: isto explica que a “pele casca de laranja”, de consistência aumentada e áspera seja um fenômeno mais feminino (MAGALHÃES, 2000).

A parte conjuntiva se compõe de fibras de colágeno e de reticulina, e as células do retículo endotelial. A vascularização é formada por uma artéria, duas veias por cada lóbulo, e numerosos capilares que recorrem os lóbulos e que circundam cada adipócito. A esta vascularização importante se forma uma rede linfática rica e uma inervação constituída de fibras simpáticas e de nervos que atravessam a hipoderme antes de chegar na derme subjacente (GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; YOUNG & HEATT, 2001).

a) Adipócitos

Provém de células precursoras que estão presentes em várias fases do tecido adiposo, possuindo apenas 40% de células diferenciadas na

hipoderme. As células precursoras aparecem muito rapidamente no feto, desde o segundo trimestre da gestação e o número de adipócitos aumenta rapidamente até a idade de um ano (6×10^9) e na época da puberdade chega a ser de 20 a 40×10^9 . Seu número segue crescendo toda sua vida para o homem, e na mulher até em torno dos 50 anos.

O adipócito adulto é uma célula redonda com medidas em torno de 50 a 150 μm de diâmetro, contém uma única e volumosa inclusão lipídica que “empurra” o citoplasma e o núcleo para a periferia da célula (AZULAY, 1985; EXSYMOL, s/d; GARTNER & HIATT, 1999; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b; PAULINO et al., 2002).

b) Metabolismo dos triglicerídeos

A massa graxa representa em torno de 15% do peso corporal do homem e 20% da mulher. O organismo possui somente 300 a 400 g de glicogênio e 6 kg de proteínas musculares utilizáveis, porém pode armazenar 8 kg de triglicerídeos (1 kg de glicerol e 7 kg de ácidos graxos).

A oxidação dos ácidos graxos produz 9 kcal/g, enquanto que das proteínas, dos glicídeos e do glicerol libera somente 4 kcal/g: as reservas energéticas de um homem de 70 kg, cujo metabolismo de base é em torno de 1500 kcal, asseguram ao seu organismo uma certa autonomia em caso de carência alimentar.

O tecido adiposo constitui, portanto, uma formidável reserva energética armazenada sob a forma de triglicerídeos intracelulares. Estes podem ser hidrolisados para voltar a fornecer os ácidos graxos nos tecidos: a lipólise, adaptada para as necessidades energéticas, está constantemente em equilíbrio com a lipogênese; sendo que a primeira predomina à noite, período onde o balanço energético é negativo, enquanto que a segunda predomina durante o dia, caracterizando um balanço energético positivo

(CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999b).

c) **Biossíntese dos triglicerídeos**

Ocorre principalmente a partir do glicerol “ativado” , o alfa-glicerofosfato (α -glicerofosfato P), e dos ácidos graxos “ativados” sob a forma de coenzima A (Acil-CoA) (**Figura 2**).

O α -glicerofosfato provém da glicólise anaeróbica, sendo que em torno de 25 g de glicose são metabolizadas por esta via a cada 24 horas, porém, pode se originar também do piruvato, que resulta do metabolismo dos aminoácidos e é a existência desta segunda fonte que permite manter a lipogênese durante o jejum prolongado e de hipoglicemias crônicas (EXSYMOL, s/d; MARZZOCO & TORRES, 1999).

Os ácidos graxos procedem de várias fontes, sendo a principal o sangue. Os que são circulantes no sangue estão incluídos em lipoproteínas, constituídas de triglicerídeos e de uma parte protéica. O adipócito possui um complexo enzimático membranário, a lipoproteína lipase, que hidrolisa as lipoproteínas para liberar os ácidos graxos que penetram dentro das células. A atividade desta enzima é elevada durante o período após alimentação por estimulação pela insulina, e diminuída durante o período de jejum prolongado ou durante um exercício muscular (EXSYMOL,s/d; MARZZOCO & TORRES, 1999; MORVAN & MIGUEL, 2002).

Figura 2– Biossíntese dos triglicerídeos (EXSYMOL, s/d).

d) Regulação da lipólise

Os glóbulos vermelhos e o cérebro somente aceitam a glicose como provedor de energia: portanto é essencial que o organismo possa manter uma proporção mínima de glicose em qualquer condição nutricional. A lipólise produz ácidos graxos livres que fornecem energia para as células musculares e permitem dispensar a glicose para os tecidos glico-dependentes. A lipólise também produz glicerol que penetrará na neoglicogênese hepática (EXSYMOL, s/d; ZANINI & OGA, 1994).

Esta lipólise coexiste com a lipogênese, mas uma das duas vias predomina: a regulação do metabolismo do tecido adiposo, em particular a lipólise, depende do estado nutricional e das estimulações hormonais.

Apesar do efeito modulador dos ácidos graxos, a lipólise é em maior parte regulada pela taxa do AMPc, pela atividade da adenilciclase ou da fosfodiesterase (**Figura 3**).

Figura 3- AMPc e lipólise (EXSYMOL, s/d).

Os principais fatores de regulação do tecido adiposo estão descritos a seguir e esquematizados na **Figura 4**.

✓ Catecolaminas

A adrenalina e sobretudo a noradrenalina estimulam a adenilciclase em um tempo de latência de alguns segundos e esta ação se faz por intermédio dos receptores β (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d).

✓ Hormônios tireoidianos (TSH, T3, T4)

Desencadeiam em alguns segundos a lipólise, aumentando a taxa de síntese da adenilciclase (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d).

✓ Glicocorticóides

Seu tempo de ação é mais prolongado, levando cerca de 1 a 3 horas pois atuam nos fatores protéicos pelos quais ativam sua síntese. Possuem uma ação lipolítica e antilipogênese, uma vez que inibem a síntese de α -glicerofosfato por deficiência em glicose (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d).

✓ Glucagon

O glucagon provoca em alguns segundos a lipólise, estimulando a adenilciclase. Embora seja um poderoso hiperglicemiante, apresenta uma ação fugaz, pois a insulina secretada inibe rapidamente em grande parte a sua ação (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d).

✓ Hormônio do crescimento (GH)

A lipólise desencadeada pelo hormônio do crescimento necessita de um tempo de latência de algumas horas, pois envolve a síntese das proteínas que aumentam a sensibilidade da adenilciclase para as catecolaminas (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d).

✓ Insulina

É um hormônio de regulação da lipogênese: é lipogênica e anti-lipolítica.

A insulina inibe a adenilciclase, que diminui as taxas de AMPc e a ativação da triglicerídeo lipase, portanto a lipólise fica bloqueada.

A insulina ativa a lipoproteína-lipase e estimula a captação de glicose pelas células, aumentando a lipogênese (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d).

Figura 4 – Principais fatores de regulação do tecido adiposo (EXSYMOL, s/d).

3.1.3.2 Receptores adrenérgicos e lipomobilização

As investigações sobre o adipócito permitiram individualizar vários tipos de receptores que permitem ativar ou inibir a lipólise conforme mostra a **Figura 5**. Infelizmente, existem muitos mais inibidores do que ativadores deste processo.

Receptores ativadores: adrenérgicos β_1 e β_2 .

Receptores inibidores: adrenérgicos α_2

purinérgicos (receptores A_1 para a adenosina),
prostaglandinérgicas (PGE_1 e PGE_2),
peptidérgicos (Y e YY).

Na realidade, no homem são características do adipócito:

- presença de uma única via maior ativante da lipólise, β -adrenérgica.
- existência dos sistemas antagonistas, β -estimulante e a via α_2 -inibitória, ativados pelos mesmos sinais.

Vários estudos indicaram que a resposta da adrenalina, variou segundo o sítio anatômico e a intensidade da lipólise dependeu da densidade relativa dos receptores (EXSYMOL, s/d).

Os receptores α_2 e o neuropeptídeo Y são mais numerosos na zona glútea que na abdominal, e os receptores β são menos numerosos sobre o adipócito femural. A razão entre os receptores α_2 e β varia mais ou menos segundo a localização do tecido adiposo, sendo em torno de 1 para o tecido profundo intra-abdominal, e 2 para o tecido adiposo abdominal e 4 para o tecido adiposo femural (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d).

Figura 5- Receptores e lipólise (CURRI & BOMBARDELLI, 1994).

3.2 Celulite

3.2.1 Introdução

A celulite ou hidrolipodistrofia ginóide é um apanágio da mulher, pois a presença do estrógeno, mesmo em níveis normais, é essencial (ACCÚRSIO,1999; BETH, 2003; CELULITE, 2003a; CELULITE, 2003b; MACEDO, 1989; PEYREFITTE et al, 1998).

A denominação mais correta para a celulite é hidrolipodistrofia ginóide, por ser um termo científico que etimologicamente significa: hidro, de água; lipo, de lipos, relativo à gordura; *distrofia*, que demonstra desordem nas trocas metabólicas do tecido. O termo *ginóide* significa *forma de mulher*. Portanto, a hidrolipodistrofia ginóide é uma alteração genuína e loco-regional do panículo adiposo subcutâneo determinante do formato corporal característico da mulher, com perda do equilíbrio histofisiológico local (CIPORKIN & PASCHOAL,1992).

A celulite afeta cerca de 80 a 90% da população feminina, e por este motivo, alguns autores consideram-na um atributo próprio do sexo e não um estado patológico (GERSMAN,1996).

O aspecto acolchoado que comumente ocorre na pele das nádegas e dos músculos se deve à configuração espacial dos lóbulos graxos da mulher (EXSYMOL, s/d).

Na mulher, estes lóbulos estão delimitados por barreiras perpendiculares, conforme ilustra a **Figura 6**, na superfície cutânea e fazem uma protuberância na derme e quando se aperta a pele, os lóbulos graxos acentuam a sua protuberância conforme mostram as setas, e por reação, a superfície cutânea é atraída em profundidade: está formada a “pele de laranja”, como é popularmente conhecido (BERTIN et al., 2001; DI SALVO, 1995; KUREBAYASHI, 2003).

Figura 6- Disposição dos lóbulos graxos na mulher (EXSYMOL, s/d).

No homem os lóbulos são de tamanho pequeno, e delimitados por barreiras oblíquas com relação à superfície cutânea (**Figura 7**). Quando se aperta a pele, os lóbulos se deslizam uns aos outros conforme indicam as setas, e o fenômeno de “pele de laranja” não existe.

Figura 7- Disposição dos lóbulos graxos no homem (EXSYMOL, s/d).

Na mulher, a celulite se instala de preferência na parte baixa do corpo, enquanto que nos homens aparece comumente na região dos troncos (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d).

A celulite produz mudanças estruturais na imagem física, acarretando não apenas transtornos orgânicos graves, mas também alterações da auto-estima da paciente devido a mudanças exteriores que se manifestam como futura doença (CURRI, 1993; GERSMAN et al., 1996).

A presença da celulite modifica a estrutura histológica da pele, altera o tecido conjuntivo e, conseqüentemente, ocorre excessiva polimerização dos mucopolissacarídeos o que resulta no aumento da retenção de água, sódio e potássio, conduzindo à elevação da pressão intersticial e gerando compressão de veias e vasos linfáticos (CURRI, 1993; GERSMAN et al., 1996; KUREBAYASHI, 2003; SÁNCHEZ, 1994; TONG et al., 1997).

O tecido apresenta degeneração de fibras elásticas, proliferação de fibras colagênicas, hipertrofia dos adipócitos e edema (GASBARRO &

VETTORELLO, 1992; GERSMAN et al., 1996; RECIO et al., 1993; VIDA KOVIC et al., 2000).

Em nível clínico, apresenta sintomas gerais como fadiga, astenia, sensação de peso nas pernas, tensão e às vezes dores espontâneas difusas que aumentam de intensidade com o repouso, podendo chegar a câimbras noturnas. Em estágio avançado, a pele apresenta espontaneamente o aspecto de “pele de laranja” por tumefação dos planos superficiais e dilatação dos poros foliculares, ou acolchoado, sucessão de pequenas protuberâncias e pequenas depressões devidas às trações da epiderme que ocorrem nos tecidos profundos, aspecto acetinado por diminuição da camada epidérmica, estrias por ruptura das fibras elásticas da derme, equimoses por fragilidade capilar, microvarizes por tentativa de vascularização superficial (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992).

Devemos esclarecer que existem muitas diferenças entre celulite e adiposidade comum. Na celulite, a pele encontra-se áspera, com consistência aumentada, aparência de “casca de laranja” e existe a dor. Na obesidade, a pele apresenta aspecto suave e sem dor. A celulite também pode se instalar em mulheres magras, sendo observado um número maior de mulheres com celulite em relação ao de obesas (BARATA, 1995; EXSYMOL, s/d, SANCHEZ, 1994).

A natureza exata da celulite é desconhecida, mas vários pesquisadores têm buscado sua etiologia (BUSCAGLIA, 1996). Apesar das indefinições sobre os processos que iniciam a celulite, duas linhas de pensamento são mais aceitas:

a) Modificações na permeabilidade capilar

As paredes dos vasos que irrigam o tecido subcutâneo são formadas por células ligadas a substâncias conectivas (ricas em colágeno) e que formam uma parede separando o conteúdo dos vasos do meio externo. Os principais obstáculos à permeabilidade de substâncias são as membranas

das células dos capilares, formadas basicamente por fosfolipídeos. Em uma situação normal, um número selecionado de substâncias provenientes do sangue, em concentração adequada, atravessa as paredes dos vasos (por transportes ativo e passivo) com o objetivo de nutrir os tecidos. Em alguns casos, a estrutura fosfolipídica das paredes dos vasos é alterada e, pode ocorrer o aparecimento de “buracos” na membrana ou desorganização das lamelas lipídicas, favorecendo aumento da permeabilidade das paredes dos vasos. Nestes casos, muitas substâncias que normalmente não atravessariam a barreira conseguem permear e a quantidade de material permeante também é maior que o normal.

Quando as estruturas estão em equilíbrio, o material permeado em excesso dos vasos e as substâncias excretadas pelas células são captados pelos vasos linfáticos. Estes fazem a drenagem dos tecidos, retirando as toxinas e substâncias não mais necessárias para as células. Se, no entanto, a permeabilidade das paredes dos capilares é elevada, um volume maior de substâncias necessita ser drenado, sobrecarregando os vasos linfáticos que não conseguem realizar todo o trabalho. Desta maneira, parte desse material invade os tecidos adiposo e conjuntivo da derme, provocando proliferação de fibroblastos, das fibras de glicosaminoglicanos, de colágeno e de elastina, que começam a envolver os adipócitos e aprisioná-los em nódulos, formando-se a celulite (DRAELOS, 1996).

b) Deslocamento do equilíbrio entre lipólise e lipogênese nos adipócitos

O tecido adiposo não é um tecido estático e apenas de reserva como muitos possam pensar, mas é extremamente dinâmico, onde diversos mecanismos metabólicos estão em curso, sendo os mais importantes a lipólise e a lipogênese. A enzima lipolítica mais importante é a triglicerídeo-lipase, ativada na presença do AMPc intracelular (DRAELOS, 1996).

As ações das xantinas devem-se ao fato de elas inativarem a enzima fosfodiesterase, impedindo a degradação de AMPc em AMP. O AMPc é um

importante mensageiro intracelular, que dá início a uma cascata de reações intracelulares que levarão às ações observadas nos tecidos. Uma das ações mediadas pelo AMPc intracelular é a lipólise (TOUITOU et al, 1994b; MARZZOCO & TORRES, 1999).

O modo como a célula recebe informações para inibir ou estimular a lipólise é baseado na atividade dos receptores membranários α e β adrenérgicos. Os β adrenérgicos estimulam uma enzima localizada na membrana do adipócito e chamada adenilciclase, responsável pela transformação de ATP em AMPc. Uma outra enzima envolvida no metabolismo de degradação dos lipídios é a fosfodiesterase, mediada pela ação das xantinas, que promove a degradação do AMPc, e conseqüentemente, inibe a lipólise (MARZZOCO & TORRES, 1999; TOUITOU et al, 1994b).

Considerando as informações acima, podemos concluir que, para estimular a lipólise, alguns caminhos podem ser usados pelos agentes lipolíticos:

- ✓ Estímulo de receptores adrenérgicos β , que ativam a ação de adenilciclase, aumentando os níveis de AMPc intracelular.
- ✓ Inibição dos receptores adrenérgicos α , evitando assim a inibição da adenilciclase.
- ✓ Inibição da fosfodiesterase, evitando assim a degradação do AMPc intracelular.
- ✓ Retirada dos ácidos graxos do ambiente onde ocorre a lipólise, com objetivo de modificar o equilíbrio entre lipólise e lipogênese, no sentido de produção de ácidos graxos, ou seja, da degradação de gordura (ROSENBAUM, 1998).

Entre os fatores que podemos considerar como causas da celulite, temos:

- ✓ Hábitos de vida: alimentação desbalanceada e muito rica em gorduras e carboidratos; ficar em posições que comprometem a circulação por muito

tempo, como estar sentado ou de pé por muito tempo; usar roupas muito apertadas e condições estressantes, dentre outros.

✓ Fatores hormonais: hormônios como estrógenos e da glândula tireóide podem desencadear problemas de celulite com grande extensão no organismo.

✓ Fatores hereditários: as pesquisas demonstram que há um componente genético para a celulite, ou seja, se a mãe ou avó tiveram celulite, provavelmente o descendente terá predisposição para este problema (BARATA, 1995; CELULITE, 2003b; RANGEL, 1998).

Para melhor compreensão da fisiopatologia e terapêutica aplicada à lipodistrofia localizada, Ciporkin et al., 1992, complementaram o conceito das unidades operacionais, através da qual fatores predisponentes (genéticos), desencadeantes (hiperestrogenismo) e coadjuvantes (sedentarismo, alimentares, hormonais e doenças associadas) atuam sobre quatro unidades funcionais do tecido conjuntivo adiposo: matricial-intersticial, microcirculatória, neuro-vegetativa e energética adiposa.

A unidade *matricial-intersticial* tem como principal elemento o fibroblasto, por ser responsável tanto na diferenciação celular como na síntese, secreção e degradação da maior parte dos elementos constituintes do tecido.

A matriz extracelular do tecido conjuntivo é constituída de uma parte fibrilar (fibras colágenas e do sistema elástico), entre a qual se interpõe a substância intercelular amorfa representado por proteoglicanos, ácido hialurônico e glicoproteínas (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992).

Os fibroblastos são produtores da mucina, uma substância amorfa, que pode estar na forma de gel ou sólida, formada por ácidos mucopolissacarídeos, dos quais o mais importante é o ácido hialurônico. Quando ocorre seu aumento na pele, este confere a característica de “pele de laranja” à superfície cutânea e, quando se acumulam nos interstícios da derme, dão o aspecto de pele acolchoada (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; RANGEL, 1998).

A unidade *microcirculatória* é influenciada por fatores endógenos como o sistema nervoso central e periférico e os hormônios; fatores exógenos, como temperatura, compressão e traumas; e fatores químico-farmacológicos, tais como bloqueadores α e β , inibidores da fosfodiesterase e venoativos (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; RANGEL, 1998).

A unidade *neuro-vegetativa* é constituída pela inervação simpática do tecido dermo-hipodérmico, que age nos receptores α e β , provocando uma resposta imediata do sistema adenilciclase, que atua em nível do fibroblasto da microcirculação e dos adipócitos (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; RANGEL, 1998).

A unidade *energética-adiposa* é a responsável pelo armazenamento de triglicerídeos, a partir dos carboidratos e lipídeos circulantes, sendo o tecido com maior capacidade de variação de volume no organismo (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; RANGEL, 1998).

3.2.2 Tratamento

3.2.2.1 Abordagem cosmética

A abordagem cosmética de ação na redução da celulite é muito atraente como tratamento, pois não requer esforço do paciente e não envolve uma terapia invasiva (TONG & GERICKE, 1997).

Recentemente, tem sido freqüentemente adotada pelos formuladores uma forma de abordagem ao problema da celulite, baseada em três princípios que são:

- ✓ Lipólise
- ✓ Drenagem
- ✓ Reestruturação Cutânea

Lipólise

A atividade de degradação das gorduras realizada pelos produtos anticelulíticos envolve o emprego de agentes que intensificam o metabolismo da lipólise, como os inibidores da fosfodiesterase, ativadores dos receptores β -adrenérgicos dos adipócitos e inibidores dos α -adrenérgicos (BUSCAGLIA, 1996; CHARASSE, 1993; DICKINSON & GORA-HARPER, 1996; DRAELOS, 1996; HYNIE et al., 1966; PAULINO et al., 2002; ROSENBAUM, 1998; SAINIO, et al., 2000).

Drenagem

Na atividade de drenagem, é necessária uma estimulação da circulação localizada e principalmente o reforço das paredes dos vasos que se encontram enfraquecidos na região da celulite e na região posterior a ela (baixa pressão sanguínea ocasionada pelas obstruções à passagem de sangue na região da celulite). Se não houver um reforço destes vasos, pode haver rompimento durante a drenagem.

Um fator importante para a drenagem é a massagem da região para estimular a movimentação das gorduras. Para isso, os produtos de combate à celulite devem ter as características que conferem a lubrificação adequada da região para realizar a operação. O fortalecimento do vaso é realizado por produtos ricos em flavonóides e antocianidinas (fator vitamínico P), enquanto o incremento da circulação local pode ser feito por ativadores da microcirculação periférica e pela massagem (DRAELOS, 1996).

Reestruturação Cutânea

A ação da celulite sobre a pele pode ser comparada a um “terremoto” na superfície cutânea, causando uma desestruturação da arquitetura celular quanto à organização, quantidade e características celulares. Para reverter este quadro, é necessário iniciar um processo de restauração utilizando substâncias que induzam a cito estimulação, a nutrição, a oxigenação, combate aos radicais livres, a hidratação e que tenham, ainda, uma ação

antiinflamatória. A importância desta última atividade está no fato de que apesar da celulite não se caracterizar como um processo inflamatório, o procedimento de drenagem e seu tratamento eliminam toxinas em estase, desencadeando alguns processos inflamatórios e irritantes, além das paredes dos vasos na celulite estarem enfraquecidas ocasionados pelas obstruções à passagem de sangue na região da celulite (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d; MAGALHÃES, 2000).

Substâncias ativas para o combate da celulite

Entre as principais substâncias ativas utilizadas no combate à celulite estão:

- ✓ Substâncias ativas vasoprotetoras
- ✓ Substâncias ativas antiinflamatórias
- ✓ Estimuladores da microcirculação periférica
- ✓ Agentes lipolíticos
- ✓ Enzimas

Substâncias ativas vasoprotetoras

Diminuem a permeabilidade capilar, acelerando e melhorando a circulação sanguínea como a linfática, reabsorvendo os edemas (CELULITE, 2003b). Promovem a circulação venolinfática, reduzindo a esclerose dos fibroblastos e estimula seletivamente o sistema retículo-endotelial (GERSMAN et al., 1996). São exemplos de agentes vasoprotetores:

- ✓ Extratos vegetais ricos em flavonóides como a *Ginkgo biloba*, hera, castanha da Índia, rusco e cavalinha.
- ✓ Leucoantocianidinas: pertencem à classe dos flavonóides, conhecidos como poderosos anti-radicaais livres e vasoprotetores. Têm sido extraídas da *Vitis vinifera* (uva).
- ✓ Saponosídeos: são substâncias importantes no tratamento da celulite sendo que algumas delas como as saponinas triterpênicas parecem possuir pronunciada ação vasoprotetora. Entre os extratos ricos em

saponinas destacam-se a *Centella asiática*, hera, rusco, cavalinha e chá verde.

Substâncias ativas antiinflamatórias

A ação antiinflamatória ocorre por inibição da síntese de prostaglandinas, substâncias fisiologicamente ativas presentes em muitos tecidos tendo como efeito a vasodilatação, e dos leucotrienos, mediadores da inflamação, e da liberação de histamina, mediadora dos processos de sensibilização (MAGALHÃES, 2000)

- ✓ Extratos vegetais: alcaçuz, castanha da Índia, *Centella asiática*, *Ginkgo biloba* e camomila.
- ✓ Outras substâncias ativas antiinflamatórias: ácido glicirrético e derivados, α -bisabolol.

Estimuladores da microcirculação periférica

As substâncias ativas desses extratos vegetais atuam em nível do tecido conjuntivo, regulando a estruturação das formas fibrilares conectivas por atuar no RNA mensageiro matricial do fibroblasto (etapa de tradução de polipeptídeos de colágeno, controlando assim a fixação de prolina e alanina desta fibras (CIPORKIN & PASCHOAL, 1992)

- ✓ Extratos vegetais estimulantes: extratos de arnica, urtiga, *Centella asiática*, hera.
- ✓ Ésteres nicotínicos: nicotinato de metila.

Agentes lipolíticos

- ✓ Bases xânticas: são alcalóides derivados da xantina, sendo os mais utilizados a cafeína, teofilina e teobromina. Estas espécies químicas estimulam os receptores β -adrenérgicos dos adipócitos e principalmente inibem a fosfodiesterase, aumentando o AMPc intracelular.
- ✓ Silícios orgânicos: estimulam a lipólise sem aumentar os níveis de AMPc intracelular, possivelmente com a energização do mecanismo de uso do

AMPC e estimulando a adenilciclase membranária. Encontram-se no mercado silícios orgânicos associados a bases xânticas (cafeína e teofilina) para o tratamento da celulite.

- ✓ Iodos orgânicos: o iodo é um ativo inibidor da fosfodiesterase. Em alguns casos é usado na forma de sal (KI ou NaI), porém a melhor forma são os iodios orgânicos.
- ✓ L-carnitina: A L-carnitina é usada em suplementos alimentares como “fat burners” pois atua como um transportador de ácidos graxos levando-os para dentro da mitocôndria e desobstruindo o processo de lipólise. Geralmente é associado com outros agentes lipolíticos (CHARASSE, 1993; CIPORKIN & PASCHOAL, 1992; EXSYMOL, s/d).

Enzimas

A substância fundamental do tecido conjuntivo que ocupa os espaços interfibrilares é constituída, em sua maior parte, por mucopolissacarídeos, proteoglicanos, glicosaminoglicanos, água, sais e glicoproteínas análogos ao plasma. A enzima mucopolissacaridase possui um fator de difusão e uma ação despolimerizante. O polímero possui alto peso molecular sobre os glicosaminoglicanos, elevando a permeabilidade. Isso influencia a difusibilidade dos produtos exógenos e também sobre o intercâmbio de nutrientes e o metabolismo entre célula e sangue, reduzindo a quantidade de água retida no espaço intercelular (MAGALHÃES, 2000).

3.2.2.2 Tratamento físico por ações mecânicas

Jato de ar térmico

Utiliza o ar sob pressão como procedimento básico. Uma turbina de alta velocidade acoplada a uma mangueira com bico metálico semicircular gera uma grande pressão de ar, que poderá ser graduado em termos de temperatura e frequência de vibração. Variando-se os planos de reflexão de acordo com o ângulo de incidência do jato de ar e a distância da região em

tratamento, são produzidas, nos tecidos, vibrações que chegam a 150 oscilações por segundo, ocasionando um típico movimento ondulatório. A alta velocidade do jato de ar térmico exerce um efeito calórico tissular elevado e profundo, acelerando os processos metabólicos (MAGALHÃES, 2000).

Aerohidroterapia/ hidromassagem

Adiciona-se ar sob pressão a uma banheira de hidromassagem, o que proporciona uma massagem vibratória uniforme e relaxante (MAGALHÃES, 2000).

Vacuoterapia (endermólise)

Consiste no aproveitamento do vácuo induzido mecanicamente. O instrumental empregado compreende aparelhos portáteis ou não. Os de grande porte são manipulados exclusivamente em gabinete, constam de motor, bomba de vácuo e tubulações que se comunicam com ventosas de tamanhos e formas variadas, de acordo com a região anatômica a tratar. A massagem é realizada pela alternância entre sucção e interrupção, que provoca um vácuo no interior das ventosas. As de média e grande capacidade de potência médias, devido sua força de aspiração, são particularmente eficazes na remoção de infiltrados subcutâneos, líquidos intersticiais e nódulos hipodérmicos, aumentando a irrigação sanguínea dos músculos e tecidos adjacentes, e resgatando a nutrição e o metabolismo adequado (MAGALHÃES, 2000).

3.2.2.3 Tratamento físico por radiações eletromagnéticas

Raios ultravioletas

Para obter a radiação ultravioleta emprega-se geralmente o metal mercúrio, que possui propriedade de sensibilização por excitação utilizando descarga elétrica e variação térmica (elevação da temperatura), formando vapores metálicos ricos em raios ultravioletas (MAGALHÃES, 2000).

Usado no tratamento de celulite de baixo volume, suas ondas penetram de 3 a 4 cm de profundidade na pele e agitam fortemente as partículas de água da região, que colidem com as células gordurosas provocando a sua eliminação (NATURALE, 2002).

Infravermelho

A radiação infravermelho, devido ao componente calórico que possui, funciona como uma fototermoterapia. Compreende radiações entre 700 e 1550 W, devendo ser empregada diariamente por 15 minutos a uma distância de 20 a 40 cm da região a ser tratada. As aplicações terapêuticas clássicas resultam em analgesia, mobilização celular por hiperatividade, acne, edemas e celulite (MAGALHÃES, 2000).

Corrente galvânica/ iontoforese

Classifica-se como sendo uma corrente ininterrupta, ondulatória e unidirecional. O efeito fundamental que caracteriza essa corrente contínua é a sua ação eletrolítica.

No organismo humano, quando os íons chegam aos tecidos e perdem sua carga, tornam-se quimicamente ativos. Em relação à iontoforese, pode-se mencionar que consiste na introdução, no organismo, de diferentes íons com variados fins. Somente as substâncias ionicamente dissociáveis podem ser introduzidas, sendo necessário a presença do H^+ . A principal via de penetração cutânea não ocorre pela epiderme, mas sim pelo folículo pilossebáceo. Através desse procedimento são obtidos maiores níveis de penetração, com conseqüente aumento no aproveitamento das propriedades inerentes aos produtos. (MAGALHÃES, 2000).

Com relação ao organismo humano sob o ponto de vista elétrico, considera-se que a célula, as paredes celulares e os espaços intercelulares são hidratados com grande concentração de Na^+ e Cl^- , que são bons condutores. A parede celular pelo seu escasso conteúdo de água apresenta uma resistência superior. Nesse meio de distinta permeabilidade a corrente passará preferencialmente pelos espaços intercelulares e conectivos, onde

existe diminuta resistência. O percentual transportado é proporcional a três fatores:

- Intensidade da corrente.
- Tempo de permanência da corrente.
- Velocidade de penetração dos íons (MAGALHÃES, 2000).

Corrente farádica

É uma corrente obtida e caracterizada por sua assimetria, interrupção, baixa frequência, baixa voltagem (100 a 200 volts) e pequena intensidade. Com a aplicação da corrente farádica se procura obter uma mobilização do tecido subcutâneo. O aparelho é regulado de forma que as ondas permaneçam espaçadas e lentas, produzindo satisfatoriamente vibrações nas estruturas adjacentes, sem fadiga. Caso as contrações prossigam com maior rapidez, seguindo praticamente uma às outras, consegue-se uma faradização tremulante e/ou vibratória. No momento em que atinge uma frequência entre 60 e 120, as estruturas musculares passam para a forma tetanizante, ocorrendo efeito revulsivo na pele, com ação sobre a circulação sangüínea, e conseqüente redução de edemas e ativação da secreção glandular (MAGALHÃES, 2000).

3.2.2.4 Outros métodos terapêuticos

Produtos mesoterápicos

A mesoterapia é uma evolução terapêutica executada loco regionalmente, desenvolvida por Pistor em 1952. As formulações utilizadas devem atuar simultaneamente na camada adiposa e na ativação da microcirculação que está comprometida (MAGALHÃES, 2000). Consiste em uma injeção de substâncias ativas numa camada da pele denominada mesoderma, com 4 mm de profundidade. As substâncias ativas aplicadas localmente melhoram a circulação, a metabolização das gorduras e estimulam a síntese de colágeno (CELULITE, 2003b; NATURALE, 2002; NETO, 1993; HILEL, 1993; RECIO et al., 1993).

As substâncias ativas mais utilizadas são:

- ✓ **lombina:** é um alcalóide indólico monoterpênico inibidor seletivo dos receptores α -2-adrenérgicos, que agem na modulação das respostas do estímulo simpático, bloqueando ou impedindo os efeitos dos agentes simpatomiméticos. Trata-se de um fármaco com ação predominantemente vasodilatadora (ALMA, 2001; DI SALVO, 1995).
- ✓ ***Ginkgo biloba*:** utiliza-se extrato seco de *Ginkgo biloba* com 30% de flavonóides. Possui ação antiinflamatória por inibição da síntese de prostaglandinas, substâncias fisiologicamente ativas presentes em muitos tecidos e resulta como efeito a vasodilatação; e dos leucotrienos, mediadores da inflamação, e da liberação de histamina, (envolvida nos processos de sensibilização). Diminui os processos inflamatórios, a permeabilidade capilar e conseqüentemente o edema. Possui ação eutrófica (*eu* = bem + *trophe* = nutrição: que promove a nutrição) tecidual sobre o tecido conjuntivo, aumentando a síntese de colágeno na parede dos vasos; ação lipolítica através da lipase e ação anti-radical livre (MAGALHÃES, 2000).
- ✓ **Pentoxifilina:** substância lipolítica que age através de estimulação da hidrólise dos triglicerídeos de reserva. Possui ação anti-trombótica, inibindo a agregação plaquetária e recuperando a microcirculação e a irrigação dos tecidos (MAGALHÃES, 2000).
- ✓ **Vitamina C:** é essencial para a síntese do colágeno. Na ausência de ascorbato na pele são produzidas fibras anormais, contribuindo para as lesões na pele e fragilidade vascular; possui ação fotoprotetora e previne o fotoenvelhecimento cutâneo crônico (KARLSON et al., 1982; FREIBERGER et al., 1980; MAGALHÃES, 2000; PRISTA et al., 1992b; THORMAHLEN, 2000).
- ✓ **Buflomedil (10 mg/mL):** substância de ação vasodilatadora, restaura a eficácia da microcirculação, aumentando o diâmetro dos microvasos em 16 a 20% (HILEL, 1993; MAGALHÃES, 2000).

Hábitos de vida

Os hábitos de vida devem ser saudáveis, envolvendo: alimentação equilibrada, redução do estresse, não fumar, boa postura ao sentar-se, na posição ereta, e ao caminhar.

A ginástica periódica e moderada ativa a circulação, favorece e tonifica a musculatura, sendo também indicada (ACCÚRSIO, 1999; CELULITE, 2003b; MAGALHÃES, 2000).

Drenagem linfática manual

O sistema linfático representa uma via acessória através da qual os líquidos podem fluir dos espaços intersticiais para o sangue, transportando para os capilares sanguíneos as partículas maiores que não podem ser removidas por absorção. A drenagem linfática manual favorece e auxilia os mecanismos fisiológicos de retorno vascular (MAGALHÃES, 2000; NATURALE, 2002).

“Subcision”

O método propõe a correção dos defeitos de depressão através de dois mecanismos: o primeiro consiste no ato cirúrgico de cortar a fibrose, que prende os tecidos do sistema músculo aponeurótico à derme e, o segundo, consiste na formação de tecido conjuntivo novo que se inicia após a resolução do hematoma formado no primeiro ato, ao serem cortados alguns vasos (CELULITE, 2003b; RITTES, 1998)

Cirurgia plástica

Nos casos de grandes deformidades recorre-se à lipectomia (ressecção de blocos de gordura) (MAGALHÃES, 2000).

3.3 Cafeína

3.3.1 Fonte e histórico

A cafeína, a teofilina e a teobromina são três alcalóides correlacionados que aparecem em plantas distribuídas geograficamente de maneira ampla. Pelo menos metade da população do mundo consome chá contendo cafeína, preparado das folhas de *Thea sinensis*, arbusto nativo no sul da China e atualmente é cultivado em outros países. O café, a fonte mais importante da cafeína na dieta norte-americana, é extraído do fruto da *Coffea arábica* e espécies correlacionadas. Os refrigerantes do tipo cola geralmente contêm quantidades consideráveis de cafeína, em parte devido a seu conteúdo dos extratos de *Cola acuminata* (nozes mastigadas pelos nativos do Sudão) (RANG et al., 2001; STADLER et al., 1995).

A base da popularidade de todas as bebidas que contém cafeína é a antiga crença de que têm ações estimulantes e anti-soporíficas que melhoram o temperamento, diminuem a fadiga e aumentam a capacidade de trabalho (RANG et al., 2001; ZANINI & OGA, 1994).

A cafeína, em 1958, foi reconhecida pelo FDA (Food and Drug Administration) como geralmente segura (CHARASSE, 1993; YOCHIV, 1995).

Os estudos farmacológicos clássicos, durante a primeira metade do século passado confirmaram estas experiências e revelaram que as metilxantinas possuem também outras propriedades farmacológicas (BARONE & GRICE, 1989; BRITISH Pharmacopoeia; 1999; GOODMAN & GILMAN, 1996; MARTINDALE, 1996; RANG et al., 2001; THE JAPANESE Pharmacopoeia, 1996; UNITED States Pharmacopoeia, 2002).

3.3.2 Características físicas e químicas

Descrição: cristais prismáticos, inodoro, sabor levemente amargo. O valor do pH da solução a 1% é 6,9 (THE MERCK Index, 1996).

Fórmula molecular da cafeína (THE UNITED States Pharmacopoeia, 2002) é $C_8H_{10}N_4O_2$.

A **Figura 8** mostra a fórmula estrutural da cafeína.

Peso molecular: 194,19

Figura 8 - Fórmula estrutural da cafeína:

Solubilidade em água: 1 g de cafeína é solúvel em: 46 mL de água a 25° C; 5 mL de água a 80° C; 1,5 mL de água fervendo. A solubilidade da cafeína em água se eleva na presença de benzoatos, cinamatos, citratos ou salicilatos (THE MERCK Index, 1996).

3.3.3 Mecanismo de ação

As xantinas em geral possuem efeito estimulante sobre o sistema nervoso central, músculos cardíaco e esquelético, agem nos rins produzindo diurese e inibem a contratilidade dos músculos lisos (CHARASSE, 1993; YOCHIV, 1995; ZANINI & OGA, 1994).

A cafeína na Cosmetologia é utilizada como um agente lipolítico no tratamento da celulite, por sua ação sobre a enzima fosfodiesterase, estimulando os receptores β -adrenérgicos dos adipócitos que, por sua vez, estimulam a hidrólise da gordura armazenada como triglicerídeos. Dessa forma, a cafeína promove a lipólise por inibição da fosfodiesterase, que transforma AMPc em AMP, levando à conversão dos triglicerídeos em

ácidos graxos e glicerol (ACCURSIO, 1999; BUSCAGLIA, 1996; CHARASSE, 1993; DRAELOS, 1996).

Outro modo de atuação da cafeína é a facilidade de ação das catecolaminas (adrenalina e epinefrina), substâncias liberadas por nosso organismo e que tem também ação lipolítica pelo estímulo da enzima adenil-ciclase (ACCÚRSIO, 1999; MACEDO & VERRI, 1993).

Estudos "in vitro" com adipócitos humanos e de ratos, revelaram a liberação de glicerol após aplicação de um produto contendo cafeína, indicando a ocorrência de lipólise com aumento de degradação de triglicerídeos em ácidos graxos livres e glicerol. A determinação deste glicerol permite uma avaliação precisa da intensidade da lipólise (CAFEISILANE® C, s/d; CLEMENT et al., 2000; EXSYMOL, s/d; DI SALVO, 1995).

Estudos "in vivo", com 20 mulheres, entre 18-54 anos, apresentaram redução de 5% nos lipídeos subcutâneos após 15 e 30 dias de aplicação de gel contendo mistura de cafeína, teofilina e extratos de plantas, duas vezes ao dia. Não se observou perda de peso, embora 45% apresentou redução da celulite (DI SALVO, 1995).

Existem estudos que apresentam a função de barreira da pele e a distribuição tópica da cafeína utilizando pele humana e membranas artificiais. Estes estudos investigaram a permeação percutânea da cafeína através da pele humana para verificar sua rota de permeação e indicaram que não há nenhuma evidência da cafeína difundir pelos poros aquosos da pele, apesar de ser uma molécula relativamente polar. As membranas sintéticas foram também examinadas para determinar se poderiam ser usadas como modelos para pele humana e os resultados indicaram que o uso de membranas sintéticas é útil para avaliar as variações de lote a lote em garantia de qualidade, mas fornece pouca indicação de como a formulação irá comportar ao ser utilizada na pele (DIAS et al, 1999; FELDMAN & MAIBACH, 1970; GARCIA et al., 2000). Outros que utilizam promotores, para aumentar a permeação da cafeína através da pele,

utilizando as células de difusão Franz. Estes estudos mostraram que a mistura de 20% de transcutol e 10% de ácido oléico resultou em um fluxo 40 vezes maior de cafeína pela pele em relação à ausência deles (DEZÉM & ARANTES, 1999; SOUTHWELL & BARRY, 1984; TOUITOU et al., 1994a) e ainda existem estudos que apresentam a influência de veículos na permeação de cafeína pela pele, utilizando-se o método de “stripping” para quantificar por HPLC a absorção percutânea de cafeína em humanos. Nestes estudos foram investigados dois veículos: uma emulsão o/a e uma solução de acetona e os resultados indicaram que a concentração de cafeína no estrato córneo foi 5 vezes maior na emulsão do que na solução de acetona. Foi encontrada aproximadamente 40% de cafeína ao redor da área tratada com acetona como veículo, este espalhamento lateral de cafeína não foi observado na emulsão (BONINA et al., 1993; CHAMBIN-REMOUSSENARD, et al., 1993).

3.3.4 Efeitos tóxicos

A intoxicação por cafeína por via sub-cutânea pode ocorrer nos casos de tratamentos mesoterápicos aplicadas de forma incorreta. Apesar da mesoterapia ser uma técnica muito eficiente e segura, quando empregada de forma inadequada e em dosagens elevadas pode causar intoxicações, podendo-se observar desde choque anafilático, agitação, ansiedade e diarreia, a efeitos locais como dor, hematomas e pruridos (LÊ COZ, 2000; ROTHMANN et al, 1999).

3.3.5 Concentração de uso da cafeína

Segundo parecer da Câmara Técnica de Cosméticos (CATEC), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde, recomenda-se que a concentração de uso de cafeína em formulações cosméticas seja limitada em 8% e 4% para as demais xantinas, isoladas ou sob formas associadas (BRASIL, 2002).

3.4 Cafeisilane® C

3.4.1 Características físicas e químicas

Cafeisilane® C é um silanol, derivado de silicone orgânico, hidrossolúvel, com numerosas funções hidroxilas e obtido por reação sobre vários radicais, selecionados para conferir especificidade para o composto. Todos os silanóis possuem algumas atividades biológicas e algumas propriedades são amplificadas pela natureza de seus radicais. No caso do Cafeisilane® C, os principais radicais são a cafeína e o ácido manurônico.

Apresenta-se estável em valores de pH entre 4,5 a 6,5 (CAFEISILANE® C, s/d; EXSYMOL, s/d; EXSYMOL, 2003; CORRÊA, 2002).

Quanto à composição analítica, o Cafeisilane® C, um produto comercializado, é formulado como descrito a seguir:

Componente	%
Cafeína	4,00
Ácido polimanurônico	0,35
Metilsilanetriol - Incluindo silicone 0,135%	0,45
1,3 butanediol	25,0
Água deionizada q.s.p.	100,0

3.4.2 Aplicação cosmética

As formulações preparadas com o Cafeisilane® C possuem as seguintes atribuições:

Acentuam contornos do corpo (lipolítico, anticelulítico);

Conferem firmeza da pele da face e do corpo;

Diminuem a bolsa sob os olhos / olhos inchados;

Atuam como umectante de corpo e face; (CAFEISILANE® C, s/d ; EXSYMOL, s/d).

3.4.3 Atividade lipolítica e anticelulítica

O metabolismo do tecido adiposo e da lipólise são fenômenos complexos e geralmente são distinguidas 3 fases:

- ✓ Lipogênese: fase de formação de lipídios;
- ✓ Armazenamento dos lipídios nos adipócitos;
- ✓ Lipólise: degradação e eliminação dos lipídios.

As pesquisas têm evidenciado que o Cafeisilane[®] C pode estar envolvido em dois diferentes estágios, com ação anticelulítica: estimulando a lipólise através de sua ação no AMPc e diminuindo a formação e armazenamento de triglicerídeos nos adipócitos por inibição da lipoproteína lípase (CAFEISILANE[®] C, s/d ; EXSYMOL, s/d).

Concentração de uso:

Cafeisilane[®] C deve ser utilizado nas formulações em concentração de 4 a 6% (EXSYMOL, s/d; CAFEISILANE[®] C, s/d; CORRÊA, 2002).

3.5 Formas cosméticas tópicas

3.5.1 Introdução

Os cremes são produtos farmacêuticos e cosméticos na forma de emulsão consistente e são empregados, como cosméticos, com finalidade de limpeza, nutrição ou hidratação da pele. São obtidos por sistemas emulsionados possuindo duas fases distintas, uma aquosa e outra oleosa, além da presença de um agente emulsificante. Apresentam também conservantes, que impedem o crescimento de microrganismos presentes na formulação. Podem ainda ser adicionados corantes, essências, antioxidantes, substâncias ativas ou aditivos especiais.

São classificados, de acordo com a fase interna e externa, em emulsões óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O). Nas emulsões óleo em água, a água engloba a partícula de óleo, assim, a fase externa sendo água possibilita um efeito evanescente e não engordurante. Em emulsões do tipo

água em óleo, a fase oleosa engloba a fase aquosa, apresentando portanto um efeito untuoso sobre a pele. As partículas que compõem a fase interna da emulsão são polidispersas (apresentam dimensões variáveis), e suas dimensões médias é que são usadas na classificação das emulsões. Por exemplo, se seu diâmetro for menor do que 100 Å (angström) ela passa a ser referida como emulsão micelar. Com diâmetro de partículas cuja média esteja situada entre 100-2000 Å a emulsão passa a ser denominada de microemulsão. Partículas com diâmetro médio maior formam uma macroemulsão, que é o tipo mais comum utilizado na formulação de produtos cosméticos (BEZERRA & REBELLO, 1996; DAVIS, 1977; FOX, 1994; PRISTA et al., 1992a).

No desenvolvimento e na elaboração da forma cosmética creme, deverão ser consideradas a finalidade a que se destinam e as características da epiderme; facilidade de penetração; não irritabilidade e não alergenicidade, isto é, não devem ocasionar problemas para o indivíduo que as utilizam. Devem manter-se estáveis, não separando os seus componentes e ser também compatíveis com as substâncias ativas incorporadas (BEZERRA & REBELLO, 1996; DAVIS, 1977; FOX, 1994; PRISTA et al., 1992a).

As loções são preparações líquidas destinadas à aplicação externa na pele. Podem ser soluções, suspensões ou emulsões. A maioria das loções contém substâncias reduzidas a pós finos insolúveis no meio de dispersão e mantidas em suspensão com agentes suspensores. Outras possuem como fase dispersa substâncias líquidas imiscíveis no veículo e em geral são dispersas por emulsificantes ou outros estabilizantes adequados (ANSEL, et al., 2000).

As soluções são preparações líquidas que contêm uma ou mais substâncias químicas dissolvidas num solvente adequado ou numa mistura de solventes miscíveis. Aquelas de uso tópico geralmente são utilizadas como agentes antimicrobianos (ANSEL et al., 2000).

Os géis são sistemas semi-sólidos que consistem na dispersão de moléculas grandes ou pequenas em um veículo líquido adquirindo consistência semelhante à gelatina pela ação de uma substância a ele adicionada, como derivados de celulose ou polímero carbovinílico. São consideradas dispersões coloidais pois contêm partículas de dimensão coloidal (partículas entre 1 nm e 0,5 µm) (ANSEL et al., 2000).

Há dois tipos de géis:

- ✓ Os géis hidrófilos ou hidrogéis, a base de água, glicerol, propilenoglicol, borrachas, derivados da celulose, silicatos;
- ✓ Os géis hidrófobos ou oleogéis, à base de parafina líquida, óleos, etc (HERNANDEZ & MERCIER-FRESNEL, 1999; GEL, 2003).

Gel hidrofílico é uma preparação semi-sólida formada por partículas com dimensões coloidais. Geralmente os geleificantes são polímeros que, quando dispersos em meio aquoso, e utilizando às vezes o aquecimento e correção de pH, conferem consistência gelatinosa à preparação (GEL, 2003; pH GEL, 2003).

Existem várias substâncias que podem formar géis sendo que as mais empregadas como bases em formas cosméticas são: o polímero carboxivinílico (Carbopol®) fornecido na forma ácida e neutralizado durante a preparação com uma base, gerando géis com maior viscosidade e pH entre 6,5 e 7,5; e a hidroxietilcelulose (Natrosol®) que, em concentração adequada, intumesce com a água formando géis de consistência média e de característica não-iônica (GEL, 2003; pH GEL, 2003).

O gel não iônico é compatível com a maior parte dos ativos hidrossolúveis usados em cosmetologia, como substâncias ácidas (ácido glicólico e ascórbico), que devido ao seu pH muito ácido é incompatível com o gel de Carbopol® (GEL, 2003; pH GEL, 2003).

Os géis têm sido muito usados como bases dermatológicas pois possuem bom espalhamento, não são gordurosos e podem veicular

substâncias ativas hidrossolúveis e lipossomas (CARBOPOL, 1981; GEL, 2003; pH GEL, 2003).

3.6 Estabilidade de produtos cosméticos

A estabilidade de um cosmético é a capacidade apresentada pelo mesmo, num determinado período de tempo, do início ao fim de sua vida útil, no material de acondicionamento adequado, de manter as mesmas propriedades e características que tinha no momento em que finalizou a sua fabricação por meio de procedimento padronizado. Essas propriedades são resultado de projeto e desenvolvimento racional do produto e podem ser classificadas sob cinco aspectos: químico, físico, microbiológico, toxicológico e de funcionalidade (D'LEON, 2001; KHURY, 2001).

Os testes de estabilidade em produtos cosméticos são imprescindíveis para garantir a qualidade, fornecendo informações confiáveis que auxiliem na determinação do prazo de validade do produto final. São necessários também para orientar no desenvolvimento de fórmulas, selecionar as matérias-primas e o material de acondicionamento (CLARO–JUNIOR, 2001; D' LEON, 2002; RIBEIRO et al., 1996; WITTERN et al., 1985).

Considerando-se os medicamentos, as denominações *prazo de validade*, *vida de prateleira* e *tempo de utilização* indicam o período no qual acima de 90% do teor do princípio ativo deve permanecer inalterado por reação química ou física e estar disponível para a ação terapêutica, desde que seus produtos de degradação estejam identificados e sua toxicidade conhecida, não aumentando a toxicidade da preparação. Tais características podem ser extrapoladas para as formulações cosméticas, adicionadas de outras como, por exemplo, perda das características organolépticas do produto, o que indica que após este tempo o cosmético não deve ser oferecido para os consumidores (CADWALLANDER, 1989; RIBEIRO et al., 1996).

Os fatores que influenciam na estabilidade do produto são classificados como extrínsecos ou externos à formulação, tais como: tempo, temperatura, luz, umidade, oxigênio e vibração; e fatores intrínsecos, ou relacionados à própria natureza das formulações e também, reações de decomposição, como interações entre os componentes da fórmula e até com o material de acondicionamento. As alterações podem ser de aspecto, valor de pH, viscosidade, oxidação e/ou redução, hidrólise de substâncias, contaminação microbiológica e outros (VELASCO-DE-PAOLA, 2001; RIBEIRO et al., 1996).

Os testes mais comumente realizados para avaliar a estabilidade de um produto cosmético são: características organolépticas (aspecto, cor, odor), valor de pH, teor de água, viscosidade, análise quantitativa dos componentes ativos da formulação e contagem microbiana (CLARO-JUNIOR, 2001).

As condições de armazenamento das amostras, de acordo com a necessidade, disponibilidade e tipos de produtos a serem analisados podem ser: temperatura ambiente (22° C a 25° C); temperatura elevada (45° C a 50° C); baixa temperatura (5° C - geladeira); exposição à luz; temperaturas alternadas (estufa, freezer e gradiente de temperatura) (D'LEON, 2001; FERRARI, 1998; RIBEIRO et al., 1996; ROPKE et al., 2000; WITTERN, 1985).

3.7 Histologia e seus métodos de estudo

3.7.1 Introdução

Histologia é o ramo da anatomia que estuda os tecidos animais e vegetais. A palavra histologia é usada como sinônimo de anatomia microscópica, já que seu tema engloba não somente a estrutura microscópica dos tecidos, mas também das células, dos órgãos e dos sistemas (GARTNER & HIATT, 1999).

A histologia não mais se relaciona simplesmente com a estrutura do corpo; mas também com sua função. De fato, o objetivo da histologia tem uma relação direta com outras disciplinas, sendo essencial para sua compreensão (GARTNER & HIATT, 1999).

Inicialmente, a histologia estava cerceada pela capacidade limitante do microscópio óptico para revelar minúcias dos tecidos. O microscópio eletrônico ampliou consideravelmente o campo de estudo da histologia, porque é aproximadamente 1.000 vezes mais poderoso do que o microscópio óptico. Além disso, muitos outros instrumentos e técnicas de estudo contribuíram para ampliar ainda mais o campo da histologia (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999a).

3.7.2 Preparação dos tecidos na microscopia óptica

Várias técnicas têm sido desenvolvidas na preparação de tecidos para estudo, de modo que eles tenham aparência o mais próximo possível do seu estado natural. As etapas envolvidas são: **fixação**, impregnação num meio adequado; **microtomia**, corte em finas camadas, que permitam a visualização por transiluminação; **montagem** numa superfície de fácil manipulação; e **coloração**, de modo que os vários componentes da célula e do tecido possam ser diferenciados (GARTNER & HIATT, 1999; WILLY & PAULETTE, 1976).

3.7.2.1 Fixação

A fixação estabiliza os tecidos, refere-se ao tratamento do tecido com agentes químicos que não só retardam as alterações *post mortem* do tecido (ou após a retirada do corpo), mas também mantêm a arquitetura normal (GARTNER & HIATT, 1999).

A principal função dos fixadores é insolubilizar as proteínas dos tecidos. Essa insolubilização é essencial na fixação, pois as proteínas são as

responsáveis pela estrutura das células e tecidos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999a).

Não existe fixador ideal. Os mais comuns na microscopia óptica são o formol tamponado a pH 7,4 e o líquido de Bouin (GARTNER & HIATT, 1999).

O fixador mais utilizado em histologia é o formol, solução de formaldeído a 37%, principalmente por ser mais barato e simples (BANCROFT & STEVENS, 1996; JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983).

3.7.2.2 Desidratação e Clarificação

Em razão de uma grande parte do tecido ser constituída de água, uma série gradativa de banhos de álcool, começando com álcool a 70% indo até etanol puro (100%), é utilizada para retirar a água (desidratação). O tecido é, então, tratado com xilol, agente químico miscível e parafina fundida. Esse processo é conhecido por clarificação, já que o tecido se torna translúcido pelo xilol (GARTNER & HIATT, 1999).

3.7.2.3 Impregnação

Para distinguir as células sobrepostas em um tecido e a matriz extracelular, os tecidos devem ser embebidos num meio adequado e, posteriormente, cortados em camadas finas. Para a microscopia óptica, o meio de impregnação usual é a parafina. O tecido é colocado num recipiente adequado com parafina fundida até ser completamente embebido (impregnado). Uma vez que o tecido esteja impregnado com parafina, ele é colocado num pequeno recipiente retangular contendo um pouco de parafina fundida e se deixa solidificar à temperatura ambiente, formando-se um bloco de parafina com o tecido no seu interior (inclusão) (GARTNER & HIATT, 1999), (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999a).

3.7.2.4 Microtomia

Após os blocos de tecido serem aparados do excesso de material, eles são montados para o corte ou microtomia com micrótomo, máquina equipada com uma navalha e um braço que faz o bloco de tecido progredir em avanços iguais e específicos. Para o microscópio óptico, a espessura de cada corte deve ser de 5 a 10 μm (GARTNER & HIATT, 1999), (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983).

Os cortes obtidos são transferidos para lâminas de vidros revestidas com albumina de ovo glicerizada para facilitar a aderência do corte nas lâminas (JUNQUEIRA & JUNQUEIRA, 1983).

3.7.2.5 Montagem e Coloração

Cortes de parafina para a microscopia óptica convencional, feitas com navalha de aço, são colocadas em lâminas de vidro cobertas com adesivo. A coloração para a microscopia óptica é conseguida geralmente com corantes hidrossolúveis. Desta forma, a parafina deve ser removida dos cortes, e em seguida, o tecido é reidratado, de modo que a lamínula possa ser permanentemente fixada, usando uma montagem adequada. A lamínula não só protege o tecido do dano como também é necessária para a visualização do corte com o microscópio.

Os corantes mais comumente utilizados em histologia são a hematoxilina e a eosina, geralmente referidos como H e E, respectivamente. A hematoxilina é uma base que colore, preferencialmente, componentes ácidos da célula em uma cor azulada. Em razão de os componentes ácidos das células mais comuns serem o DNA e o RNA, o núcleo e certas regiões do citoplasma se coram em azul escuro. Estes componentes são chamados basófilos. A eosina é um ácido que colore os componentes básicos da célula em róseo. Em razão de muitos constituintes citoplasmáticos terem um pH

básico, algumas regiões do citoplasma se coram em rosa. Estes elementos são chamados acidófilos (GARTNER & HIATT, 1999).

3.8 Morfometria

Desde a mais remota antiguidade, o homem vem desenvolvendo a sua habilidade para reproduzir as formas encontradas na natureza. Para isso, ele teve que desenvolver a capacidade de efetuar medidas relativamente seguras para ter sucesso em suas construções.

A quantificação nas ciências biomédicas tem como metas promover as medidas e a objetividade para estabelecer o diagnóstico. A aplicação desses métodos possibilita o aperfeiçoamento da capacidade de se estabelecer este diagnóstico e freqüentemente, no campo da anatomia patológica, até mesmo o prognóstico.

A palavra Morfometria é formada pelo radical grego – *morphé*, que significa a forma, associado ao radical grego – *metrikós*, ou do latim – *metricu*, que significa ato de medir ou processo de estabelecer dimensões. Embora o termo tenha aplicação ampla na ciência, o sentido em biomedicina, em última análise seria a “Atividade de medir estruturas anatômicas”.

Esse método tem por função tornar mais objetiva e precisa a coleta, a apresentação e a análise dos resultados obtidos em pesquisas e na rotina de laboratório, permitindo ainda se relacionar as diferentes estruturas anatômicas com as funções (MORFOMETRIA, 2002)

É a mensuração e a descrição da dependência das sub-unidades estruturais ou funcionais de um organismo, com o crescimento e a função de uma parte desse organismo, ou desse ser vivo como um todo.

A morfometria computadorizada automática foi disponibilizada em larga escala à comunidade científica a partir do final da década de 80 e permite a

medição automática, mais rápida e com menor interação do pesquisador, inclusive com a utilização de “macros”. Estas últimas são gravações da rotina do procedimento morfométrico que agilizam ainda mais a coleta de dados. Os mais difundidos são os da série KS 300, da Kontron- Zeiss (**Figura 9**).

Figura 9 -Equipamentos e acessórios mais utilizados em Morfometria. Equipamento de Morfometria Computadorizada KS 300, Kontron-Zeiss. Ele é constituído basicamente por: (A) um microscópio de luz acoplado a uma câmera de vídeo colorida, (B) um Monitor de vídeo de alta definição e (C) uma Unidade de Processamento, com placa capturadora de vídeo. Além disso, essa estação de trabalho tem os outros mesmos periféricos utilizados em computadores pessoais. (MORFOMETRIA, 2002).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Matérias - primas

Utilizaram-se denominações das matérias-primas citadas no INDEX ABC (BRANDÃO, 2000) e catálogos de empresas (CAFEISILANE[®] C, s/d ; CARBOPOL[®], 1981; EXSYMOL, s/d).

4.1.1.1 Grau de pureza analítico (P.A.)

- Ácido acético glacial – Merck
- Alúmen de potássio - Synth
- Benzoato de sódio – Synth
- Bicromato de potássio - Synth
- Butil-hidroxi toluol (BHT) - Suprind
- Cafeína – Synth
- Cloreto de Sódio – Merck
- Edetato dissódico (EDTA dissódico) – Synth
- Entellan[®] (mistura de isômeros do xilol) – Merck
- Eosina amarelada - Merck
- Formaldeído (solução 37%) - Merck
- Glicerina – Synth
- Hematoxilina – Merck
- Metilparabeno (Nipagin[®]) - Polytechno
- Óxido de mercúrio – Baker Analysed
- Paraplast[®] Embedding Media (parafina para histologia) - Sigma
- Propilparabeno (Nipazol[®]) - Polytechno
- Trietanolamina – Synth
- Xilol - Merck

4.1.1.2 Grau de pureza farmacêutico

- 2 octil dodecanol (Polymol® G) – Polytechno
- Acetato de cetila e álcool de lanolina acetilado (Acetulan®) – Ionquímica
- Ácido pícrico (solução saturada) - Dinâmica
- Álcool absoluto (álcool etílico), 96° GL, Zulu
- Álcool cetílico etoxilado e propoxilado (Procetyl® AWS) - Croda
- Álcool cetoestearílico (Álcool® C1618S) - Ionquímica
- Álcool cetoestearílico etoxilado 20 OE (Graxion® CS 20) - Ionquímica
- Álcool de lanolina acetilada (Crodalan® LA) – Croda
- Base concentrada auto-emulsionante não iônica CR 1 (Crodabase®) – Croda
- Cafeína - Basf
- Cafeisilane® C (silício orgânico saturado em cafeína) - Ionquímica
- Carbômero (Carbopol® 940, ETD 2020, Ultrez) - BF Goodrich
- DMDM Hidantoína (Glyntant®) - Algroup Lonsa
- Edeteato dissódico (Dissolvine® NA 2X) – Chemyunion
- Fenoxietanol + parabenos (Phenoben®) - Ionquímica;
- Fosfato de trilaureto 4 (Hostaphat® KL 340N) – Clariant
- Fluido de silicone (DC® 200) – Dow Corning
- Hidroxietilcelulose (Cellosize® QP 100 MH) - Union Carbide
- Imidazolidiniluréia (Germall® 115) - ISP
- Lanolina anidra USP - Croda
- Miristato de isopropila (Polymol® IPM) - Polytechno
- Monoestearato de glicerila-(Methilan® GMS) - Polytechno
- Oleato de decila (Polymol® CTV) - Polytechno
- Óleo de amêndoas doces - Ionquímica
- Óleo mineral 70 - Ipiranga
- Palmitato de cetila (Crodamol® CP) - Croda
- Palmitato de isopropila (Polymol® IPP) – Polytechno
- Sesquiestearato de metilglicose PEG-20 (Glucamate® SSE-20) - Amerchol
- Sesquiestearato de metilglicose (Glucate® SS) - Amerchol
- Silicone (DC® 5225C) - Dow Corning

- Silicone fluido (DC® 345, 245 e 200) - Dow Corning
- Silicone volátil (DC® 245) - Dow Corning
- Vaselina sólida – Sidepal

4.1.2 Equipamentos

- Agitador mecânico tipo “mixer”, Walita
- Balança granatária, Ohaus Precision Plus - modelo TP4KD
- Balança semi-analítica, Mettler – modelo P120
- Banho ultrassônico, Thornon – modelo T14
- Banho-maria com agitação, com graduação de temperatura de 0 a 80 °C, Nova Ética, 500D
- Centrífuga, Donner – modelo 5412
- Destilador de água, Fabbe - modelo 106
- Estufa de cultura, com graduação de temperatura de 0 a 100 °C, Fanem - modelo 002CB
- Estufa para inclusão, com graduação de temperatura de 0 a 100 °C, Fabbe
- Freezer, Consul - Gram Luxo 280
- Microscópio de luz - Carl Zeiss, Axioplan 2, série m. 235976
- Microscópio, Olympus - CH2
- Micrótomo – “820” Spencer, American optical Corporation
- Monitor, Siemens, Fujitsu®, x178
- Peagômetro (pHmetro), Digimed - DM 20
- Programa Axio Vision, Carl Zeiss
- Programa Excel 97, Microsoft
- Programa KS 300 3.0, Kontron Elektronik
- Programa Word 97, Microsoft
- Refrigerador, Boch – Ecoplus 370 -Termostat
- Vídeo câmera, Cairl Zeiss, AxioCam color, série n. 245 00 2269 r12
- Viscosímetro Visco Star-R, Fungilab, com agulhas TR9 e TR10

4.1.3 Vidrarias e outros materiais

- Bisnagas de polietileno branco opaco tipo “picolé”, capacidade de 60 g e 80 g
- Caixinhas de papel dobradas manualmente, dimensões aproximadas de 2 cm x 2 cm x 1,5 cm
- Clara de ovo de galinha
- Cubas altas de vidro para coloração de lâminas, com capacidade 8 lâminas
- Espátulas de aço inoxidável flexível (15,0 x 2,5 cm), com cabo de madeira
- Frascos de polietileno branco opaco e de boca larga, capacidade de 100 g
- Frascos de vidro de boca larga, capacidade 70 mL
- Lâminas de aço inoxidável, Gillette®
- Lâminas de vidro 26 mm x 76 mm com extremidade fosca lapidada, Knittel
- Lamínulas de vidro 20 mm x 24 mm x 32 mm, Corning
- Luvas de látex, hipoalergênicas, não estéreis, ambidestras
- Navalhas descartáveis para cortes histológicos de inclusões em parafina, revestidas em teflon, 75 mm x14 mm, Leica 818
- Papel indicador de pH, Merck (intervalo de 0 - 14)
- Pinça dente de rato
- Tacos de madeira, dimensões aproximadas de 2 cm x 2 cm x 2 cm
- Termômetro graduado de 0 a 100° C
- Tesoura ponta romba

4.1.4 Animais de laboratório

- Espécie: ratas albinas
- Linhagem: Wistar
- Sexo: feminino
- Tempo de vida: 5 a 7 meses
- Classificação genética: heterogênicos
- Padrão sanitário: SPF (livre de patógenos específicos)
- Peso de 220 g – 310 g
- Procedência: Biotério ICB/USP

4.1.5 Formulações propostas

Utilizaram-se denominações das matérias-primas citadas no INDEX ABC, 2000 e catálogo de empresa (CAFEISILANE® C, s/d ; EXSYMOL, s/d).

As tabelas 1 e 2 apresentam as composições percentuais das emulsões e géis respectivamente. As formulações de emulsões e géis foram desenvolvidas com base em pesquisa na literatura de componentes utilizados para o tratamento da celulite.

Os quadros 1 e 2 apresentam os estudos críticos das emulsões e géis, respectivamente.

Tabela 1 – Composição percentual das emulsões propostas (1-9)

Composição percentual % p/p										
FASE A	COMPONENTES	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	2-octil-dodecanol	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-
	Acetato de cetila e álcool de lanolina acetilado	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-
	Álcool cetosteárilico	3,0	-	4,5	3,5	2,0	-	2,0	-	-
	Álcool cetosteárilico etoxilado 20 OE	3,0	-	-	1,5	-	-	-	-	-
	Álcool cetílico etoxilado e propoxilado	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,5
	Butil-hidroxi toluol	0,05	0,05	-	-	-	0,05	-	-	-
	Base concentrada auto-emulsionante não iônica	-	12,0	-	-	-	8,0	-	-	-
	Álcool de lanolina acetilada	5,0	-	1	1,5	-	-	-	-	-
	Palmitato de cetila	3,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sesquiestearato de metilglicose PEG 20	-	-	-	-	-	-	-	1,8	-
	Sesquiestearato de metilglicose	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-
	Fosfato de triaureto 4	-	-	-	-	9,0	-	-	-	-
	Lanolina anidra	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-
	Miristato de isopropila	-	-	2,5	2,5	-	-	-	-	-
	Monosteato de glicerila	3,0	-	4,5	4,5	-	-	-	1,0	-
	Óleo de amêndoas doces	-	2,0	-	-	-	-	2,0	-	-
	Óleo mineral	-	-	-	5,0	10,0	-	-	-	10,0
	Palmitato de isopropila	-	-	-	-	5,0	-	-	2,5	-
	Oleato de decila	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-
	Silicone DC® 200	-	-	-	0,3	-	-	-	0,3	2,0
	Silicone DC® 345	1,0	-	-	-	-	-	-	-	10,0
	Silicone DC® 5225C	-	-	-	-	-	-	-	-	7,0
	Vaselina sólida	-	-	-	-	-	-	-	-	10,0
FASE B	Benzoato de sódio (fórmula A)	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
	Cafeína (fórmula A)	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
	Cafeisilane® C (fórmula B)	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
	Cloreto de sódio	-	-	-	-	-	-	-	1,0	2,0
	EDTA	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hidroxiethylcelulose 1% p/v q.s.p.	-	-	100,0	100,0	-	-	-	-	-
	Hidroxiethylcelulose 2% p/v	-	-	-	-	-	-	20,0	-	-
	Água destilada q.s.p.	100,0	100,0	-	-	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
FASE C	DMDM Hidantoína	-	-	-	-	-	-	-	0,04	0,04
	Imidazolidiniluréia	0,8	0,8	-	-	0,8	0,8	0,8	-	-
	Fenoxietanol e parabenos	0,3	0,3	1,0	1,0	1,0	0,3	0,3	-	-
FASE D	Ácido cítrico ou trietanolamina q.s. pH	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5

Quadro 1 – Estudo crítico dos componentes das emulsões (BRANDÃO, 2000; CAFEISILANE® C, s/d; EXYMOL, s/d).

EMULSÃO		
	COMPONENTES	FUNÇÃO
FASE A	Álcool cetílico etoxilado e propoxilado	Tensoativo
	Álcool cetosteárilico etoxilado 20 OE	
	Álcool cetosteárilico	
	Monoestearato de glicerila	
	Fosfato de trilaureto 4	
	Álcool de lanolina acetilada	Agente condicionador da pele
	2-octil-dodecanol	
	Base concentrada auto-emulsificante não iônica	
	Palmitato de cetila	
	Miristato de isopropila	
	Oleato de decila	
	Lanolina anidra	
	Vaselina sólida	
	Palmitato de isopropila	
	Sesquiestearato de metilglicose	
	Sesquiestearato de metilglicose PEG 20	
FASE B	Silicone (DC® 200, DC® 345 e DC® 5225C)	Agente condicionador da pele, emoliente e hidratante oclusivo (reduz perda de água da pele)
	Óleo de amêndoas doces	
	Óleo mineral	
	Acetato de cetila e álcool de lanolina acetilado	Emoliente e hidratante oclusivo
	Butil-hidroxi toluol	Antioxidante
	Edeteato dissódico	Quelante de metais com ação antioxidante
	Benzoato de sódio	Auxiliar de solubilização da cafeína
	Cafeína	Substâncias ativas de ação lipolítica
	Cafeisilane® C	
	Cloreto de sódio	Agente auxiliar de estabilidade
FASE C	Hidroxietilcelulose	Agente regulador de viscosidade, espessante e geleificante
	Água destilada	Veículo
	DMDM Hidantoína	Conservante antimicrobiano
FASE D	Imidazolidiniluréia	
	Fenoxietanol + parabenos	
	Ácido cítrico	Corretivo do valor de pH
	Trietanolamina	

Tabela 2 – Composição percentual dos géis propostos (1 -4)

Composição percentual % p/p				
COMPONENTES	1	2	3	4
Benzoato de sódio (<i>fórmula A</i>)	4,0	4,0	4,0	4,0
Cafeína (<i>fórmula A</i>)	4,0	4,0	4,0	4,0
Cafeisilane® C (<i>fórmula B</i>)	6,0	6,0	6,0	6,0
Carbopol® 940 (Carbômero)	1,0	-	-	-
Carbopol® ETD 2020 (Carbômero)	-	-	1,0	-
Carbopol® Ultrez (Carbômero)	-	1,0	-	-
EDTA	0,1	0,1	0,1	0,1
Hidroxietilcelulose	-	-	-	2,0
Nipagin® (Metilparabeno)	0,25	0,25	0,25	0,15
Trietanolamina q.s. pH	6,5	6,5	6,5	6,5
Água destilada q.s.p.	100,0	100,0	100,0	100,0

Quadro 2 – Estudo crítico dos componentes dos géis (BRANDÃO, 2000; CAFEISILANE[®] C, s/d; EXYMOL, s/d)

GEL	
COMPONENTES	FUNÇÃO
Carbômero (Cabopol [®] 940)	Polímero carboxivinílico, agente espessante, geleificante, regulador de viscosidade e formador de filme, mais difíceis de dispersar em relação aos demais citados abaixo
Carbômero (Cabopol [®] Ultrez)	Agente espessante, geleificante, regulador de viscosidade e formador de filme, umedece dentro de minutos, mais rapidamente que as resinas de Cabopol [®] ETD, fáceis de dispersar, são vulneráveis a íons
Carbômero (Cabopol [®] ETD 2020)	Agente espessante, geleificante, regulador de viscosidade e formador de filme, apresenta bom desempenho na presença e íons
Hidroxietilcelulose	Polímero não iônico, agente espessante, geleificante, regulador de viscosidade e formador de filme
Metilparabeno	Conservante
Edeteato dissódico	Antioxidante, sequestrante
Cafeína Cafeisilane [®] C	Substâncias ativas de ação lipolítica
Benzoato de sódio	Auxiliar de solubilização da cafeína
Água destilada	Veículo
Trietanolamina	Corretivo do valor de pH

4.2 Métodos

4.2.1 Escolha da concentração dos componentes ativos e coadjuvantes

As recomendações da Câmara Técnica de Cosméticos (CATEC) para a cafeína isolada ou sob forma associada, em preparações cosméticas é de no máximo 8%, e 4% para as demais xantinas. Utilizou-se para o nosso estudo a concentração de 4% p/p de cafeína.

Sabendo que a cafeína foi incorporada à fase aquosa, e que sua solubilidade em água é 1 g/46 mL (MERCK Index, 1996), temos que na concentração de 4% p/p a cafeína ficaria parcialmente solúvel na formulação. Para elevar sua solubilidade nas preparações foi utilizado o benzoato de sódio, seguindo a mesma orientação que é realizada para injetáveis aquosos, onde a proporção entre cafeína e benzoato deve ser 1:1 (UNITED States Pharmacopoeia, 2002).

De acordo com o recomendado na literatura (CAFEISILANE[®] C, s/d; EXSYMOL, s/d), a concentração de Cafeisilane[®] C utilizada nas formulações foi de 6% p/p.

4.2.2 Emulsões

4.2.2.1 Preparo

As emulsões 1-7 foram preparadas da seguinte forma:

1ª Etapa: aqueceram-se os componentes da Fase A (oleosa) e Fase B (aquosa) separadamente em canecas de aço inoxidável até cerca de 75° C no Bico de Bunsen. Adicionou-se a fase aquosa sobre a fase oleosa, na forma de um fio constante, sob agitação mecânica (agitador tipo “mixer”) por aproximadamente 3 minutos. Após isso, procedeu-se à agitação manual com auxílio de uma espátula de plástico até atingir a temperatura de 45° C.

2° Etapa: após o resfriamento da emulsão para cerca de 45° C, adicionou-se a Fase C sob constante agitação manual.

3° Etapa: acertou-se o valor do pH das formulações preparadas para 6,5 com trietanolamina ou ácido cítrico (Fase D). Utilizou-se o papel indicador para verificar o valor do pH e medido no peagômetro (pHmetro) para comprovação da leitura. Neste caso, a leitura foi realizada diluindo-se 1 parte da amostra para 9 partes de água destilada (DAVIS, 1977).

As emulsões 8 e 9 foram preparadas da seguinte forma:

1ª Etapa: adicionou-se a Fase B (aquosa) sobre a Fase A (oleosa), à temperatura ambiente e com constante agitação (agitador tipo “mixer”).

2° Etapa: adicionou-se a Fase C sob constante agitação (agitador tipo “mixer”).

3° Etapa: acertou-se o pH das formulações preparadas para 6,5 com trietanolamina ou ácido cítrico (fase D), empregando a agitação manual.

Após o preparo, acondicionaram-se cerca de 10 g de cada formulação em frascos de polietileno do tipo “picolé”, com capacidade para 80 g, e submeteu-se aos testes preliminares de estabilidade.

4.2.2.2 Testes preliminares de estabilidade

Após 24 h de sua manipulação, submeteram-se as emulsões aos testes preliminares de estabilidade, observando-se após o preparo e 24 h da preparação. Analisaram-se as características organolépticas (cor, odor e aspecto) das formulações e realizou-se o teste de centrifugação para as emulsões consideradas macroscopicamente estáveis (FERRARI, 1998; MAIA, 2002; MAMBRO, 2001; NAKAMURA et. al, 2002; RIBEIRO et al.,1996; TRAVERSA, 2003).

4.2.2.2.1 Variáveis analisadas

a) Análise macroscópica

Observaram-se as emulsões visualmente quanto suas características de: cor, odor e aspecto geral (separação de fases, homogeneidade, presença de bolhas e de cristais de cafeína) (CLARO-JUNIOR, 2001; FERRARI, 1998; MAIA, 2002; NAKAMURA et al., 2002; TRAVERSA, 2003).

b) Teste de centrifugação

Submeteram-se cinco gramas de cada formulação em centrífuga, nos ciclos de 1000, 2500 e 3500 rpm (70, 440 e 863 G, respectivamente) durante 15 minutos em cada rotação, à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ \text{C}$) (RIBEIRO et al., 1996; MAIA, 2002; NAKAMURA et al., 2002; TRAVERSA, 2003).

Selecionaram-se as emulsões que permaneceram macroscopicamente estáveis, sem apresentar separação de fases, para o teste de estabilidade acelerada.

4.2.3 Géis

4.2.3.1 Preparo

Os géis obtidos através do uso de derivados de ácido acrílico (Carbopóis), que atuam como geleificantes, foram preparados do seguinte modo: adicionou-se quantidade suficiente de água no geleificante para hidratá-lo, homogeneizou-se e reservou-se durante 24 h para a sua hidratação. Após este período, adicionaram-se os outros componentes da formulação, com agitação manual com uma espátula de plástico. Ajustou-se o pH para 6,5 com trietanolamina e agitou-se manualmente com uma espátula de plástico.

O gel obtido através do uso de hidroxietilcelulose como geleificante (**Gel 4**) não necessitou permanecer em repouso para a hidratação. Este foi

preparado pela mistura de todos os componentes, e aquecimento com agitação manual até 60° C. Após o resfriamento a 45° C, ajustou-se o pH para 6,5 com trietanolamina.

Após o preparo, acondicionaram-se cerca de 10 g de cada formulação em frascos de polietileno do tipo “picolé”, com capacidade para 80 g, e submeteram-se aos testes preliminares de estabilidade.

4.2.3.2 Testes preliminares de estabilidade

Após o preparo e também 24 h de sua manipulação, submeteram-se os géis a análises preliminares de sua estabilidade. Observaram-se as características organolépticas (cor, odor e aspecto) dos géis (FERRARI, 1998; MAIA, 2002; MAMBRO, 2001; NAKAMURA et al., 2002; RIBEIRO, 1998; TRAVERSA, 2003).

4.2.3.2.1 Variáveis analisadas

a) Análise macroscópica

Observaram-se os géis visualmente quanto à cor, odor e aspecto geral (homogeneidade, presença de bolhas e presença de cristais de cafeína). Selecionaram-se os que se apresentaram macroscopicamente estáveis para o teste de estabilidade acelerada.

4.2.4 Teste de estabilidade acelerada (TEA)

Prepararam-se novamente as formulações consideradas estáveis pelos testes preliminares de estabilidade e submeteu-se ao teste de estabilidade acelerada. Pesaram-se cerca de 10 g de cada formulação, que foram acondicionadas em frascos de polietileno tipo “picolé”, com capacidade para 80 g. Submeteram-se as formulações a condições variáveis de temperatura

e as análises foram realizadas em tempos pré-determinados (RIBEIRO et al., 1996; MAIA, 2002; NAKAMURA et al., 2002; TRAVERSA, 2003).

4.2.4.1 Condições do teste

– Ciclos gela-degela

Submeteram-se as amostras a ciclos de $(-10 \pm 2^\circ \text{C})/24 \text{ h}$ (freezer), seguidas de $(45 \pm 2^\circ \text{C})/24 \text{ h}$ (estufa), completando 1 ciclo. Realizaram-se análises das amostras no 3º (6º dia) e no 6º ciclos (12º dia) (FERRARI, 1998; TRAVERSA, 2003).

– Temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ \text{C}$)

– Geladeira ($4 \pm 2^\circ \text{C}$)

– Estufa ($45 \pm 2^\circ \text{C}$)

Submeteram-se as amostra às temperaturas citadas anteriormente (geladeira, ambiente e estufa) por um período de 15 dias. Realizaram-se as leituras no 5º, 10º e 15º dias. O 1º dia correspondeu a 24 h após o preparo (t_0) das formulações.

4.2.4.2 Variáveis analisadas

a) Valor de pH

Realizou-se a leitura do pH das amostras de gel diretamente no peagômetro Digimed® MD 20, à temperatura de 22°C . Para a emulsão foi feita uma diluição na proporção de 1:10 p/v com água destilada neutralizada, de modo a evitar o entupimento da junção cerâmica do eletrodo de vidro durante a leitura, o que poderia causar respostas lentas e resultados não reprodutíveis (CLARO-JUNIOR, 2001; DAVIS, 1977; FERRARI, 1998; NAKAMURA et al., 2002; TRAVERSA, 2003).

b) Análise macroscópica

Analísaram-se as amostras quanto ao aspecto geral (separação de fases/grumos para as emulsões e precipitação/ turvação para os géis), cor e odor (FERRARI 1998; NAKAMURA et al., 2002; RIBEIRO et al., 1996; TRAVERSA, 2003).

Quadro 3 - Critérios para a identificação do aspecto

N	Normal, sem separação de fases, sem formação de cristais de cafeína, sem odor desagradável, sem alteração de cor e de aspecto.
LM	Levemente modificado, com pequenos cristais de cafeína e aspecto turvo para gel.
M	Modificado, com muita formação de cristais de cafeína e aspecto turvo para gel.
IM	Intensamente modificado, com formação de muitos cristais de cafeína, odor desagradável e aspecto turvo para gel.

c) Análise microscópica

Observaram-se as amostras em microscópio óptico com aumento de até 100X (Olympus - CH2), verificou-se a presença ou ausência de cristais de cafeína, sendo o resultado positivo identificado com (+) e negativo com (-).

4.2.5 Seleção das formulações

Foram seleccionadas as formulações de emulsão e gel que obtiveram melhores resultados nos testes de estabilidade acelerada.

Novamente, submeteram-se estas formulações a testes de estabilidade, para confirmação dos resultados preparando-se também a formulação com apenas com cafeína 4,0% p/p. Utilizou-se tampão ácido cítrico/hidrogenofosfato dissódico para a formulação de gel e trietanolamina/ácido cítrico para a formulação de emulsão a fim de manter o valor do pH estável.

4.2.6 Emulsão

4.2.6.1 Testes preliminares de estabilidade

Após 24 h de sua manipulação, submeteram-se as emulsões a análises preliminares de sua estabilidade, conforme descrito anteriormente.

4.2.7 Gel

4.2.7.1 Testes preliminares de estabilidade

Submeteram-se os géis a análises preliminares de estabilidade, conforme descrito anteriormente.

4.2.8 Teste de estabilidade acelerada (TEA) para as emulsões e géis

Submeteram-se as formulações a condições variáveis de temperatura em intervalos de tempo pré-determinados (FERRARI, 1998; MAIA, 2002; NAKAMURA et al., 2002; RIBEIRO, 1996; TRAVERSA, 2003).

4.2.8.1 Condições do teste

- **Ciclos gela-degela:**

Conforme descrito anteriormente.

– **Temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ \text{C}$)**

Mantiveram-se as formulações à temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ \text{C}$), durante 14 dias, sendo avaliadas no início (t_0 – 24 h do preparo), 7º e 14º dias.

– **Estufa ($45 \pm 2^\circ \text{C}$)**

Submeteram-se as formulações à temperatura de ($45 \pm 1^\circ \text{C}$), em estufa, durante 7 dias, sendo avaliadas no 1º, 3º e 7º dias.

– **Luz solar indireta**

Expuseram-se as formulações à luz solar indireta, durante 12 dias, sendo analisadas no 3º, 7º e 12º dias.

– **Freezer ($-10 \pm 2^\circ \text{C}$)**

Mantiveram-se as formulações à temperatura de -10°C durante 7 dias, sendo analisadas no 7º dia.

4.2.8.2 Variáveis analisadas

a) Características organolépticas

As características organolépticas das amostras foram observadas, com o auxílio de placas de *petri*, nas diversas condições de armazenamento quanto ao aspecto, observando-se separação de fases da emulsão, presença de grumos e precipitados; odor e cor e foram comparadas com as formulações sem adição de princípios ativos (branco).

b) Valor de pH

Conforme descrito anteriormente. Também foi realizada a medição antes de acertar o valor de pH para 6,5 tanto nas emulsões como nos géis para verificar a tendência ácida ou básica das formulações selecionadas.

c) Viscosidade aparente

Analísaram-se cerca de 15 g de cada amostra em viscosímetro Visco Star-R®, na temperatura de 25° C, utilizando-se para a emulsão e gel agulhas TR10 (velocidade de 100 rpm) e TR9 (velocidade de 6 rpm), respectivamente. As leituras das viscosidades aparente foram registradas após 2 minutos de estabilização do sistema para cada amostra.

4.2.9 Avaliação histológica da pele dos animais

4.2.9.1 Tratamento dos animais de experimentação com as formulações escolhidas

Utilizaram-se 20 ratas fêmeas de linhagem Wistar, pesando entre 210 g e 310 g, sendo utilizadas 10 para a forma cosmética de emulsão e as outras 10 para o gel.

Após assepsia do dorso das ratas com álcool, depilou-se a área com uma lâmina de aço inoxidável e dividiu-se em quatro partes iguais, com auxílio de um pincel atômico: dorso esquerdo superior e inferior e dorso direito superior e inferior, sendo que no dorso esquerdo superior de cada animal aplicou-se a emulsão com cafeína (EC), no dorso direito superior a emulsão com cafeína e benzoato de sódio (ECB), no dorso esquerdo inferior a emulsão com Cafeisilane® C (ECS) e no dorso direito inferior a emulsão controle – branco (C) sem substância ativa, (**Figura 10**). Da mesma forma, realizou-se a aplicação para o gel: gel com cafeína (GC), gel com cafeína e benzoato de sódio (GCB), gel com Cafeisilane® C (GCS) e gel controle - branco (G), (**Figura 11**).

EC	ECB
ECS	C

Figura 10 – Representação esquemática do dorso da rata submetida à aplicação de emulsão.

Legenda: EC: emulsão com cafeína; ECB: emulsão com cafeína + benzoato de sódio; ECS: emulsão com Cafeisilane® C; C: emulsão controle.

GC	GCB
GCS	G

Figura 11 – Representação esquemática do dorso da rata submetida à aplicação de gel.

Legenda: GC: gel com cafeína; GCB: gel com cafeína + benzoato de sódio; GCS: gel com Cafeisilane® C; G: gel controle.

Aplicaram-se cerca de 0,5 g de cada produto numa área de 2 cm² nos locais citados acima com massagem para uma melhor espalhabilidade e permeação da emulsão e do gel através da pele, durante 21 dias seguidos, duas vezes ao dia, no período da manhã e à tarde.

4.2.9.2 Preparo das lâminas histológicas

Após o período de 21 dias de aplicação das formulações sobre o dorso dos animais, estes foram sacrificados quando em estado de jejum, com utilização de gás carbônico. Fixou-se o animal pelas patas com alfinetes numa prancha em decúbito-dorsal, realizou-se a assepsia da área a ser operada com algodão embebido em álcool seguida pela tosa. Com uma pinça dente de rato beliscou-se e levantou-se o couro do animal, realizando-se uma pequena incisão por onde se introduziu a tesoura ponta romba fechada abrindo-se o animal e rompendo-se a pele.

Fixação – Passou-se a pele rapidamente em solução fisiológica para retirada do excesso de sangue e depositou-se em frasco de vidro com líquido fixador durante uma hora (o fixador utilizado foi uma solução de formaldeído a 3,7% v/v recém-preparada). Recortaram-se as peças com lâmina de aço inoxidável (tipo Gillete®) em pedaços de aproximadamente 1 cm². Deixaram-se as peças

em contato com o líquido fixador por até 24 h. Decorrido o tempo de fixação lavou-se em água corrente por 20 minutos, em água destilada por 5 minutos e conservou-se em álcool etílico 70% v/v por até 24 h.

Desidratação – Submeteram-se os cortes conservados no álcool 70% v/v a dois banhos de álcool 70% v/v, um banho de álcool 95% v/v por uma hora, dois banhos de álcool absoluto por uma hora, dois banhos de xilol por uma hora e três banhos de parafina fundida (Paraplast®) por uma hora.

Inclusão em parafina – Colocou-se a parafina em canecas de aço inoxidável e foi fundida na estufa a ($60 \pm 1^\circ \text{C}$). em seguida, foi depositada sob formas de papel, dobradas manualmente. Com uma pinça pré-aquecida colocou-se o pedaço da pele do animal na posição vertical, pressionando-se levemente para o material permanecer no fundo. Fixou-se a cada bloco de parafina seca em tacos de madeira.

Microtomia – Fixou-se os blocos no micrótomo e cortou-se com navalha bem afiada, na espessura de 5 μm e colocaram-se os mesmos em banho-maria entre 37°C e 40°C . Recolheram-se os cortes com auxílio de um pincel e depositaram-se sobre lâminas de vidro previamente pinceladas com albumina de ovo. Estas foram levadas à estufa a 60°C para fundir a parafina, onde permaneceram por aproximadamente 3 horas.

Diafanização, Hidratação e Coloração – As lâminas foram expostas ao seguinte tratamento: lavagem em xilol por 20 minutos, xilol por 10 minutos, álcool absoluto por 5 minutos, álcool 95% por 5 minutos, álcool 70% v/v por 5 minutos, água corrente por 5 minutos, água destilada por 5 minutos, hematoxilina de Harris por 1 minuto e meio, água corrente por 10 minutos, eosina (Putt) rapidamente, cerca de 10 segundos e água corrente para tirar o excesso de eosina.

Desidratação – As lâminas foram submetidas ao seguinte tratamento: álcool 95% rápida passagem, álcool etílico absoluto por 3 minutos (duas vezes), solução de álcool etílico e xilol (1:1) por 3 minutos, e xilol por 3 minutos (duas vezes).

Montagem das lâminas – As extremidades das lâminas foram secas com papel absorvente, pingou-se uma gota de Entellan[®] sobre a qual se depositou a lamínula. Após o procedimento de secagem, efetuou-se a leitura das lâminas no microscópio de luz.

4.2.9.3 Leitura das lâminas

O estudo qualitativo de cortes verticais analisou os aspectos histológicos das células adiposas submetidas à ação de cafeína e Cafeisilane[®] C através da análise visual das fotomicrografias.

O estudo quantitativo de cortes verticais analisou os aspectos histológicos da pele e das células adiposas submetidas à ação de emulsão e gel contendo cafeína e Cafeisilane[®] C pela quantificação das medidas das fotomicrografias das lâminas.

Realizaram-se leituras das lâminas utilizando-se o microscópio de luz (ZEISS) conectado a uma câmera para obter as imagens da região do tecido adiposo. Utilizou-se o programa Axio Vision para adquirir as imagens.

Foram captadas 3 imagens de cada lâmina na objetiva de 20 x 1300 e na escala de 20 x /0,50, na região das células adiposas.

As imagens fotografadas foram salvas em CD no modo (TIF) e as células adiposas foram quantificadas utilizando-se o software KS 300.

As regiões de células adiposas foram selecionadas de forma manual, visto que havia diferenças no formato de cada célula adiposa quantificada (CALIARI, 1997).

Para quantificar as células adiposas foram considerados os seguintes parâmetros:

- Para a contagem das células adiposas, as imagens foram obtidas com a ocular de 20 x. Somente foram contadas as células adiposas com estruturas inteiras e nítidas.
- Para a medida do diâmetro das células adiposas, empregou-se a ocular de 20 x. Somente foram realizadas leituras das células com estruturas inteiras e nítidas, utilizando-se o programa de análise digital (KS 300 3.0). O diâmetro foi obtido medindo-se a maior distância entre duas extremidades opostas da estrutura da célula adiposa.

4.2.9.4 Análise estatística

Para calcular o coeficiente de variação (CV) fez-se: $CV(\%) = dp/média \times 100$; onde: dp = desvio padrão.

Foi utilizado o teste *t* para verificar se havia diferença apreciável entre a média do diâmetro das células adiposas tratadas com a emulsão ou gel controle e as emulsões ou géis com as substâncias ativas (cafeína, cafeína + benzoato de sódio e Cafeisilane® C) (GUENTHER, 1972).

Utilizou-se a seguinte fórmula:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{(x - \mu)n^{1/2}}{s}$$

Sabendo que:

$$s^2 = \frac{\sum d_1^2 + \sum d_2^2}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1)}$$

$$n = n_1 n_2 / (n_1 + n_2)$$

t_{tabelado}

para $(n-1) > 10$, considerar na tabela como n sendo $\square$.

$$t(95\%) = 1,96$$

$$t(99\%) = 2,58$$

Se $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabelado}}$, então os dois conjuntos diferem significativamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Escolha da concentração dos componentes ativos e coadjuvantes

Utilizou-se para as formulações testadas a concentração de 4% p/p de cafeína e 6% v/v de Cafeisilane[®] C, conforme especificação do fabricante (Exsymol/Cafeisilane[®] C) e estando de acordo com o sugerido pela Câmara Técnica de Cosméticos (CATEC), equivalendo a 4% p/p de cafeína dentro da matéria-prima de Cafeisilane[®] C.

O derivado de cafeína escolhido para este trabalho foi o Cafeisilane[®] C, cuja atividade anticelulite é atribuída à ação lipolítica da cafeína e dos silanóis, presentes em sua composição. Um fator importante que foi considerado na escolha deste composto, foi o fato de ele ser solúvel em água na concentração de uso, ao contrário da cafeína.

Estudos “in vitro” demonstraram a atividade lipolítica de Cafeisilane[®] C nos adipócitos extraídos de amostras de tecido adiposo. Os resultados indicaram que as células adiposas podem hidrolisar os triglicerídeos, liberando ácidos graxos e glicerol, conseqüentemente reduzindo o volume dos adipócitos, quando estiverem sob ação dos silanóis em concentrações compatíveis com as propostas pelo fabricante (EXSYMOL, s/d).

A utilização de benzoato de sódio na mesma porcentagem que a cafeína nas formulações, permitiu a solubilização da cafeína conforme descrito para produtos injetáveis que contém cafeína (UNITED States Pharmacopoeia, 2002).

Nas formulações que continham apenas cafeína, pôde-se observar a presença de cristais da mesma a olho nu, quando se comparou com aquelas sem a presença de cafeína (formulações controle) e aquelas com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p. Nas preparações com cafeína + benzoato de sódio, somente foi possível a observação de presença de cristais de cafeína com auxílio do microscópio (aumento de 10 x). Isso

indicou que, na concentração utilizada, a cafeína apresentou-se pouco solúvel na formulação e que a adição de benzoato de sódio auxiliou na solubilização da cafeína, estando de acordo com recomendação da literatura (THE MERCK Index, 1996).

Apesar do benzoato de sódio facilitar a solubilização da cafeína, não existem pesquisas sobre a interação entre estes dois componentes, e que tipo de alteração na penetração e permeação e absorção pela pele, o que ocorre é o aumento da solubilidade da cafeína na fase aquosa, o coeficiente de partição óleo/água também é alterado e provavelmente irá influenciar em sua passagem pela pele (PRISTA, 1992).

O valor do pH das emulsões e géis foram acertados para 6,5 por se compatível com o valor do pH da pele e das substâncias ativas estudadas.

5.2 Emulsões

5.2.1 Testes preliminares de estabilidade

Os testes preliminares de estabilidade tiveram como objetivo a escolha das formulações que melhor se apresentaram 24 h após o preparo, de modo que ao serem utilizadas na pesquisa, apresentassem o mínimo de incompatibilidades entre seus componentes e material de acondicionamento.

As avaliações das características organolépticas (cor, odor, aspecto) das emulsões nos testes preliminares foram realizadas apenas 24 h após o preparo, uma vez que foram utilizadas bases auto-emulsionantes não iônicas e estas somente desenvolvem sua real consistência lentamente após um período de 24 a 48 horas.

Após este período de repouso, as formulações foram submetidas aos testes preliminares de estabilidade (**Tabela 3**).

A seguir serão apresentados os resultados quanto à avaliação das características organolépticas e centrifugação das formulações (emulsões) avaliadas inicialmente e após 24 h nos testes preliminares de estabilidade.

Tabela 3 – Avaliação das características organolépticas das emulsões nos testes preliminares de estabilidade.

Características					
F	após o preparo	após 24h	após Centrifugação (rpm)		
			1000	2500	3500
1A	Cor branca, odor caract., homogêneo, muito consistente	N	N	N	N
1B	Cor branca, odor caract., homogêneo, muito consistente	N	N	N	N
2A	Cor branca, odor caract., homogêneo	N	N	N	N
2B	Cor branca, odor caract., homogêneo	N	N	N	N
3A	Cor branca, odor caract., homogêneo, muito consistente.	N	N	N	N
3B	Cor branca, odor caract., homogêneo, muito consistente.	N	N	N	N
4A	Cor branca, odor caract., homogêneo, muito consistente	IM	----	----	----
4B	Cor branca, odor caract., homogêneo, muito consistente	IM	----	----	----
5A	Cor branca, pouco consistente, não homogêneo	IM	----	----	----
5B	Cor branca, pouco consistente, não homogêneo	IM	----	----	----
6A	Cor branca, odor caract., homogêneo, consistência fluida	N	LM	M	IM
6B	Cor branca, odor caract., homogêneo, consistência fluida	N	N	M	IM
7A	Cor branca, odor caract., homogêneo, consistência fluida	N	N	N	N
7B	Cor branca, odor caract., homogêneo, consistência fluida	N	N	N	N
8A	Cor branca, odor caract., Homogêneo	IM	----	----	----
8B	Cor branca, odor caract., Homogêneo	IM	----	----	----
9A	Cor branca, odor caract., Homogêneo	IM	----	----	----
9B	Cor branca, odor caract., Homogêneo	IM	----	----	----

Legenda:

F = formulações; N = normal, estável; LM = levemente modificado; M= modificado; IM = Intensamente modificado; caract. = característico; ---- = não determinado; A = cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p; B = Cafeisilane® C 6,0% p/p.

A partir dos resultados obtidos na **Tabela 3**, após 24 h do preparo, observou-se que as formulações **4A**, **4B**, **5A**, **5B**, **8A**, **8B**, **9A** e **9B** apresentaram-se intensamente modificadas, ou seja, houve a formação de muitos cristais de cafeína, quando comparadas com a emulsão controle sem adição de substâncias ativas e as demais preparações mantiveram-se estáveis na avaliação das características organolépticas (aspecto, cor e odor). Essas formulações não seguiram os testes de centrifugação pois apresentaram-se instáveis na avaliação das características organolépticas, não sendo adequadas ao estudo.

Sabendo que a cafeína é hidrossolúvel, onde, 1 g se dissolve em 46 mL de água; em 5,5 mL de água a 80° C e em 1,5 mL em água a 100° C, provavelmente a formação de cristais ocorreu devido a maior proporção de fase oleosa das formulações **4**, **5**, **8** e **9** 20,3%, 29,0%, 22,5% e 24,5% respectivamente, quando comparadas com as demais formulações cujas variações foram de 10,05% a 19,0% (THE MERCK Index, 1996).

Somente as formulações **6A** e **6B** apresentaram-se modificadas no teste de centrifugação, talvez sendo necessário alterar as proporções dos tensoativos, as demais permaneceram estáveis, sem apresentar separação de fase.

5.3 Géis

5.3.1 Testes preliminares de estabilidade

A seguir serão apresentados os resultados quanto a avaliação das características organolépticas dos géis avaliados inicialmente e após 24 h nos testes preliminares de estabilidade (**Tabela 4**).

Tabela 4 – Avaliação das características organolépticas dos géis nos testes preliminares de estabilidade.

Formulações	Características	
	após preparo	após 24 h
1A	Gel de consistência adequada, transparente, odor característico	Normal, estável
1B	Gel de consistência adequada, transparente, odor característico, presença de bolhas	Normal, estável
2A	Gel de consistência adequada, transparente, odor característico	Normal, estável
2B	Gel de consistência adequada, transparente, odor característico, presença de bolhas	Normal, estável
3A	Gel de consistência adequada, transparente, odor característico	Normal, estável
3B	Gel de consistência adequada, transparente, odor característico, presença de bolhas	Normal, estável
4A	Gel de consistência adequada, transparente, odor característico, presença de bolhas.	Normal, estável
4B	Gel de consistência adequada, transparente, odor característico, presença de algumas bolhas.	Normal, estável

Legenda: A = cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p; B = Cafeisilane® C 6,0% p/p.

Todos os géis formulados apresentaram-se estáveis na avaliação das características organolépticas (aspecto, cor e odor), após 24 h de preparo. Esse resultado era esperado, pois nesta forma cosmética, como não temos a fase oleosa, o conteúdo de água é suficiente para promover a solubilização da cafeína, não ocorrendo o problema de formação de cristais deste princípio ativo.

Analisando os 2 tipos de formulações estudadas (emulsão e gel) observou-se que as formulações com proporção elevada de fase oleosa não se apresentaram estáveis, como no caso das formulações **4, 5, 8 e 9** das emulsões, enquanto que todas as formulações dos géis apresentaram-se estáveis nesta fase inicial de estudo de estabilidade, provavelmente pelo alto teor de água, indicando a importância da solubilidade da cafeína no solvente utilizado, considerando-se que a concentração de trabalho está no limite da saturação ocorrendo facilmente a cristalização (THE MERCK Index, 1996).

5.4 Teste de estabilidade acelerada (TEA)

As formulações consideradas estáveis nos testes preliminares de estabilidade, foram preparadas novamente e submetidas aos testes de estabilidade acelerada, cujos resultados estão descritos a seguir e apresentados nas respectivas Tabelas e Figuras:

Emulsões: 1 (A e B); 2 (A e B); 3 (A e B); 7 (A e B). – **Tabelas 5 e 6 e Figuras 12 e 13.**

Géis: 1(A e B); 2 (A e B); 3 (A e B); 4 (A e B). – **Tabelas 7 e 8 e Figuras 14 e 15.**

Neste tipo de teste, as formulações foram submetidas a condições extremas de temperatura. Com isso, podem ser evidenciadas possíveis instabilidades físicas e químicas num curto período de tempo (NAKAMURA et al., 2002; RIBEIRO et al., 1996; TRAVERSA, 2003).

Tabela 5 – Resultados do teste de estabilidade acelerada das emulsões **1A**, **2A**, **3A** e **7A** (caféina + benzoato de sódio ambos a 4,0 % p/p).

Característica										
	F	Macroscópica			Microscópica			pH		
t₀	1A	N			+			6,35		
	2A	N			+			6,43		
	3A	N			+			6,53		
	7A	N			+			6,58		
tempo (dias)		5	10	15	5	10	15	5	10	15
Condição										
TA (25 ± 2° C)	1A	LM	LM	LM	+	+	+	6,42	6,40	6,48
	2A	N	N	N	+	+	+	6,35	6,38	6,24
	3A	N	N	N	+	+	+	6,60	6,62	6,48
	7A	N	N	N	+	+	+	6,60	6,41	6,36
Geladeira (4 ± 2° C)	1A	LM	LM	LM	+	+	+	6,42	6,38	6,49
	2A	N	N	N	+	+	+	6,44	6,40	6,26
	3A	N	N	N	+	+	+	6,53	6,45	6,56
	7A	N	N	N	+	+	+	6,63	6,45	6,40
Estufa (45 ± 2° C)	1A	M	M	M	+	+	+	6,33	6,28	6,25
	2A	LM	LM	M	+	+	+	6,20	6,11	6,16
	3A	N	N	N	+	+	+	6,47	6,51	6,49
	7A	N	LM	LM	+	+	+	6,41	6,25	6,15
ciclo gela- degela	3° ciclo	1A	M			+			6,33	
		2A	N			+			5,99	
		3A	M			+			6,73	
		7A	N			+			6,37	
	6° ciclo	1A	M			+			6,35	
		2A	N			+			6,00	
		3A	M			+			6,31	
		7A	N			+			6,15	

Legenda:

TA = temperatura ambiente

t₀ = 24 h após o preparo da formulação

F = formulação

N = normal, estável

LM = levemente modificado

M = modificado

+ = presença de cristais de caféina em aumento de 10 x.

Tabela 6 – Resultados do teste de estabilidade acelerada das emulsões 1B, 2B, 3B e 7B (Cafeisilane® C 6,0% p/p).

Característica											
		F	Macroscópica			Microscópica			pH		
t ₀		1B	N			-			7,25		
		2B	N			-			7,65		
		3B	N			-			7,75		
		7B	N			-			7,22		
tempo (dias)			5	10	15	5	10	15	5	10	15
Condição											
TA (25 ± 2° C)		1B	N	N	N	-	-	-	7,35	7,26	7,13
		2B	N	N	N	-	-	-	7,52	7,15	7,50
		3B	N	N	N	-	-	-	7,42	7,50	7,54
		7B	N	N	N	-	-	-	7,30	6,97	6,50
Geladeira (4 ± 2° C)		1B	N	N	N	-	-	-	7,18	7,22	7,42
		2B	N	N	N	-	-	-	7,58	7,28	7,45
		3B	N	N	N	-	-	-	7,50	7,48	7,47
		7B	N	N	N	-	-	-	6,87	6,72	6,49
Estufa (45 ± 2° C)		1B	M	M	M	-	-	-	6,95	6,87	6,94
		2B	N	N	N	-	-	-	7,18	7,03	6,45
		3B	M	M	IM	-	-	-	7,20	7,22	7,29
		7B	N	LM	LM	-	-	-	6,68	7,08	6,48
ciclo gela- degela	3° ciclo	1B	M			-			7,07		
		2B	LM			-			6,70		
		3B	M			-			7,27		
		7B	LM			-			6,97		
	6° ciclo	1B	M			-			7,01		
		2B	LM			-			6,69		
		3B	M			-			7,32		
		7B	LM			-			7,10		

Legenda:

TA = temperatura ambiente

t_0 = 24 h após o preparo da formulação

F = formulação

N = normal, estável

LM = levemente modificado

M = modificado

IM = intensamente modificado

- = ausência de cristais de cafeína em aumento de 100 x.

As Figuras 12 e 13 apresentam os gráficos de variação do valor de pH/pHi (razão entre o valor de pH durante o teste de estabilidade acelerada e o valor de pH inicial) das emulsões 1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 7A e 7B.

Figura 12- Variação do valor de pH/pHi (razão entre o valor de pH durante o teste de estabilidade acelerada e o valor de pH inicial).

Legenda:

TA = temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ \text{C}$); Gel = temperatura de geladeira ($4 \pm 2^\circ \text{C}$); Est = temperatura de estufa ($45 \pm 2^\circ \text{C}$).

Figura 13- Variação do valor de pH/pHi (razão entre o valor de pH durante o teste de estabilidade acelerada e o valor de pH inicial).

Legenda:

TA = temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ \text{C}$); Gel = temperatura de geladeira ($4 \pm 2^\circ \text{C}$); Est = temperatura de estufa ($45 \pm 2^\circ \text{C}$).

Observaram-se as seguintes respostas nos estudos de estabilidade acelerada de emulsões com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p:

Na avaliação macroscópica, após o período de 24 h do preparo, todas formulações apresentaram características organolépticas (aspecto, cor, odor) adequadas, sem presença de cristais visíveis de cafeína. Como esta substância ativa é hidrossolúvel, e sua solubilidade aumenta com a elevação da temperatura, o aquecimento utilizado durante o preparo das emulsões (75° C) facilitou sua solubilização. Talvez por este motivo, após 24 h não se verificou a presença de cristais de cafeína. **(Tabela 5).**

Na avaliação microscópica, 24 h após o preparo e em todas as condições de temperatura, todas formulações apresentaram cristais de cafeína na observação em aumento de 10x, indicando a importância de se verificar microscopicamente as formulações como um complemento da observação visual, pois às vezes a análise visual não é suficiente para detectar alguns tipos de alterações.

Podemos dizer que essa característica de cristalização se deve a concentração elevada de cafeína, havendo sua supersaturação no meio.

A introdução de benzoato de sódio pode ser considerada como uma forma de solucionar o problema de cristalização da cafeína nas formulações, solubilizando-a, pois um dos fatores determinantes para que um determinado composto penetre na superfície da pele é sua solubilidade no veículo utilizado (UNITED States Pharmacopoeia, 2002).

Nas 3 condições extremas (geladeira, estufa e ciclo gela/degela) avaliadas, a maior alteração observada no valor do pH foi de 0,4 no ciclo gela/degela, diferença pouco considerável, conforme ilustra a **Tabela 5**.

Na avaliação macroscópica das formulações em temperatura ambiente a (25 ± 2° C), praticamente apresentaram estáveis, ou seja, sem formação de cristais de cafeína visíveis. Esta temperatura retrata a condição mais provável de armazenamento do produto durante o período de comercialização (FERRARI, 1998; TRAVERSA, 2003).

Em condições extremas de temperatura (geladeira, estufa e ciclo gela/degela), a emulsão **7A (Tabela 5)**, apresentou os melhores resultados, mantendo-se estável, sem a formação de cristais de cafeína, sendo por este motivo selecionada para o estudo.

Analisando as emulsões com Cafeisilane[®] C 6,0% p/p observou-se que:

Na avaliação macroscópica, todas as emulsões após 24 h do preparo, apresentaram características organolépticas (aspecto, cor, odor) adequadas e sem cristais visíveis de cafeína (**Tabela 6**).

Na avaliação microscópica, mesmo no aumento de 100 x não foram observados cristais de cafeína (**Tabela 6**), sugerindo que toda cafeína da formulação estava na forma solubilizada no veículo da formulação, fato já esperado, visto que a concentração de cafeína dentro da matéria-prima Cafeisilane[®] C é 4,0% p/p.

Todas as emulsões com Cafeisilane[®] C (**Tabela 6**) apresentaram elevação no valor de pH 24 h após o preparo, em até 1,25 unidade de pH (**Tabela 6**), podendo causar instabilidade futura nas formulações e sugerindo a utilização de um sistema tampão para que as formulações permanecessem com valores de pH estáveis. Nas condições extremas de temperatura (4° C, 45° C e ciclo gela/degela), todas as emulsões (**1, 2, 3 e 7**), apresentaram maior variação no valor de pH na estufa em até 1,2 unidade de pH (**Tabela 6**), nas demais condições (ambiente, geladeira e ciclo gela/degela) as variações não foram consideráveis (**Tabela 6 e Figuras 12 e 13**).

A alteração no valor do pH a 45° C, pode ser explicada devido a aceleração de reações de degradação que influenciaram nas características organolépticas alteradas (RIBEIRO et al., 1996; TRAVERSA, 2003).

A emulsão **7B (Tabela 6 e Figura 13)**, apresentou melhor desempenho frente às condições extremas (4° C, 45° C e ciclo gela/degela) do estudo, pois foi a formulação que apresentou menor alteração quando

comparada com o controle, não ocorrendo formação de cristais de cafeína mesmo no aumento de 100 x e apresentando apenas pequenas alterações das características organolépticas nas condições de estufa e nos ciclos gela-degela.

Tabela 7– Resultado do teste de estabilidade acelerada dos géis **1A, 2A, 3A e 4A** (cafeína + benzoato de sódio)

Característica										
	F	Macroscópica			Microscópica			pH		
t₀	1A	N			+			7,10		
	2A	N			+			6,67		
	3A	N			+			5,88		
	4A	N			+			7,04		
tempo (dias)		5	10	15	5	10	15	5	10	15
Condição										
TA (25 ± 2° C)	1A	N	N	N	+	+	+	6,92	6,71	6,65
	2A	N	N	N	+	+	+	6,48	6,51	6,51
	3A	N	N	LM	+	+	+	5,82	5,79	5,85
	4A	N	N	N	+	+	+	6,95	6,95	6,97
Geladeira (4 ± 2° C)	1A	N	N	N	+	+	+	6,45	6,63	6,67
	2A	N	N	N	+	+	+	6,54	6,45	6,57
	3A	N	N	LM	+	+	+	5,77	5,77	5,83
	4A	N	N	N	+	+	+	6,91	7,00	6,95
Estufa (45 ± 2° C)	1A	N	N	N	+	+	+	6,66	6,57	6,62
	2A	N	N	N	+	+	+	6,51	6,49	6,52
	3A	N	N	M	+	+	+	5,83	5,88	5,85
	4A	N	N	N	+	+	+	6,93	6,85	6,87
ciclo gela- degela	3° ciclo	1A	N			+			6,61	
		2A	N			+			6,52	
		3A	N			+			5,83	
		4A	N			+			6,94	
	6° ciclo	1A	N			+			6,59	
		2A	N			+			6,50	
		3A	N			+			5,90	
		4A	N			+			6,90	

Legenda:

TA = temperatura ambiente

t₀ = 24 h após o preparo da formulação

F = formulação

N = normal, estável

LM = levemente modificado

M = modificado

+ = presença de cristais de cafeína em aumento de 10 x.

Tabela 8 – Resultado do teste de estabilidade acelerada dos géis **1B 2B, 3B e 4B** (Cafeisilane® C).

Característica										
	F	Macroscópica			Microscópica			pH		
t₀	1B	N			-			6,69		
	2B	N			-			7,27		
	3B	N			-			6,86		
	4B	N			-			6,50		
tempo (dias)		5	10	15	5	10	15	5	10	15
Condição										
TA (25 ± 2° C)	1B	N	N	N	-	-	-	6,68	7,00	7,05
	2B	N	N	N	-	-	-	7,14	7,20	6,83
	3B	N	N	LM	-	-	-	6,86	6,90	6,81
	4B	N	N	N	-	-	-	6,56	7,03	6,12
Geladeira (4 ± 2° C)	1B	N	N	N	-	-	-	6,88	7,02	7,02
	2B	N	N	N	-	-	-	7,17	7,16	7,18
	3B	N	N	LM	-	-	-	6,78	6,69	6,87
	4B	N	N	N	-	-	-	6,88	6,70	6,44
Estufa (45 ± 2° C)	1B	N	N	N	-	-	-	6,98	6,98	6,90
	2B	N	N	N	-	-	-	7,12	7,02	6,97
	3B	N	N	LM	-	-	-	6,82	6,69	6,68
	4B	N	N	LM	-	-	-	6,15	6,10	6,40
ciclo gela- degela	3° ciclo	1B	N			-			6,98	
		2B	N			-			7,14	
		3B	N			-			6,86	
		4B	N			-			6,09	
	6° ciclo	1B	N			-			7,03	
		2B	N			-			7,17	
		3B	N			-			6,80	
		4B	N			-			6,23	

Legenda:

TA = temperatura ambiente

t₀ = 24 h após o preparo da formulação

F = formulação

N = normal, estável

LM = levemente modificado

- = ausência de cristais de cafeína em aumento de 100 x.

As **Figuras 14 e 15** mostram os gráficos de variação do valor de pH/pH_i (razão entre o valor de pH durante o teste de estabilidade acelerada e o valor de pH inicial) dos géis **1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A e 4B**.

Figura 14 - Variação do valor de pH/pHi (razão entre o valor de pH durante o teste de estabilidade acelerada e o valor de pH inicial).

Legenda:

TA = temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ \text{C}$); Gel = temperatura de geladeira ($4 \pm 2^\circ \text{C}$); Est = temperatura de estufa ($45 \pm 2^\circ \text{C}$).

Figura 15 - Variação do valor de pH/pHi (razão entre o valor de pH durante o teste de estabilidade acelerada e o valor de pH inicial).

Legenda:

TA = temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ \text{C}$); Gel = temperatura de geladeira ($4 \pm 2^\circ \text{C}$); Est = temperatura de estufa ($45 \pm 2^\circ \text{C}$).

Observaram-se as seguintes características nas formulações dos géis com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p (**Tabela 7**):

Como comentado anteriormente no estudo das emulsões, a adição de benzoato de sódio nas formulações de géis, auxiliou na solubilização da cafeína, estando de acordo com a literatura (THE MERCK Index, 1996).

Na avaliação macroscópica, após 24 h o período do preparo, todas formulações (**1A, 2A, 3A e 4A**) apresentaram características organolépticas (aspecto, cor, odor) adequadas e sem cristais visíveis de cafeína .

Como a cafeína é hidrossolúvel, nesta condição inicial de estudo, permaneceu solubilizada no veículo utilizado, não se observando a formação de cristais.

Na avaliação microscópica, após o período de 24 h do preparo, todas as formulações apresentaram presença de cristais de cafeína, quando comparado com a formulação controle, sem adição da substância ativa, sendo que nas formulações **1 e 4**, pôde-se observar os cristais no aumento de 4 x e nas formulações **2 e 3**, no aumento de 10 x. Este fato reforça a importância da observação microscópica para a detecção de cristais em formulações.

Na avaliação do valor de pH 24 h após o preparo (**Tabela 7**), todas as formulações apresentaram aumento entre 0,17 a 0,6 unidade de pH, apresentando uma pequena variação no valor do pH, sugerindo o uso de um sistema tampão para manter o valor do pH estável. Em condições extremas de temperatura (4° C, 45° C e ciclo gela/degela) a maior variação ocorreu na condição de geladeira, com aumento de 0,11 a 0,65 unidade de pH, provavelmente devido à cristalização da cafeína com a diminuição da temperatura (**Figuras 14 e 15 e Tabela 7**).

Nas formulações de géis com Cafeisilane® C 6,0% p/p foram observadas as seguintes características (**Tabela 8**):

Na avaliação macroscópica, todos os géis (**1B, 2B, 3B e 4B**) após 24 h do preparo, apresentaram características organolépticas (aspecto, cor, odor) adequados, sem cristais visíveis de cafeína.

Na avaliação microscópica, mesmo no aumento de 100 x não foram observadas cristais de cafeína, sugerindo que toda cafeína do produto estava na forma solubilizada no veículo (água). Nas condições extremas de temperatura (4° C, 45° C e ciclo gela/degela), as formulações mantiveram-se estáveis, sem formação de cristais de cafeína, devido à baixa concentração da mesma.

Com exceção da formulação **4**, todas preparações apresentaram elevação no valor de pH 24 h após o preparo, de 0,19 a 0,77 unidade de pH, apresentando uma sensível instabilidade dessas formulações. Em condições extremas de temperatura não ocorreram variações significativas no valor do pH (**Figuras 14 e 15**).

A formulação **4** apresentou os melhores resultados e foi selecionada para prosseguir os estudos.

5.5 Seleção das formulações

As formulações que obtiveram melhores resultados nos testes de estabilidade acelerada foram:

Emulsão: **7 (A e B)**

Gel: **4 (A e B)**

Estas formulações foram submetidas a novos testes de estabilidade, para confirmação dos resultados e comparação com as preparações com apenas cafeína 4,0% p/p, utilizando-se trietanolamina ou ácido cítrico para a formulação de emulsão e o tampão ácido cítrico/hidrogenofosfato dissódico para a formulação do gel, com intuito de manter o valor do pH estável em 6,5 (EXSYMOL, s/d; CAFEISILANE® C, s/d).

5.5.1 Emulsão

5.5.1.1 Testes preliminares de estabilidade das emulsões

Nos testes preliminares de estabilidade, as formulações **7A** e **7B** apresentaram características organolépticas (aspecto, cor e odor) adequadas, concordando com os resultados dos testes anteriores. A formulação **7C** (emulsão com apenas cafeína 4,0% p/p) apresentou formação de cristais, após 24 h de preparo, o que era esperado, pois não foi adicionado o benzoato de sódio.

Nos testes de centrifugação, as emulsões **7A** e **7B** não apresentaram separação de fases, confirmando os resultados anteriores e também a emulsão **7C**, apresentou-se estável.

5.5.2 Gel

5.5.2.1 Testes preliminares de estabilidade dos géis

Nos testes preliminares de estabilidade, as formulações **4A** e **4B** apresentaram características organolépticas (aspecto, cor e odor) adequadas, concordando com os resultados dos testes anteriores. A formulação **4C** (gel com apenas cafeína 4,0% p/p) apresentou formação de cristais após 24 h de preparo, como era esperado, pois não foi adicionado o benzoato de sódio.

5.6 Teste de estabilidade acelerada para as emulsões e géis

Logo após o preparo das emulsões de número 7: controle, cafeína 4,0% p/p, cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p e com Cafeisilane® C 6,0% p/p foi realizada a medição dos valores de pH antes do acerto para 6,5 e os resultados obtidos foram: 5,51; 5,54; 6,45 e 5,16 respectivamente. Para os géis de número 4 os resultados foram: 5,42; 5,48; 6,39 e 5,43 respectivamente. Os resultados indicaram a tendência ácida das

formulações, com exceção das preparações com cafeína + benzoato de sódio verificou-se um valor de pH mais elevado em relação as demais provavelmente devido à formação do sal sódico.

A **Tabela 9** apresenta os resultados dos estudos de estabilidade acelerada das emulsões: controle, com cafeína 4,0 p/p cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p e Cafeisilane[®] C 6,0% p/p.

A **Tabela 10** apresenta os resultados dos estudos de estabilidade acelerada dos géis: controle, com cafeína 4,0p/p; cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p e Cafeisilane[®] C 6,0% p/p.

A Tabela 9 – Avaliação física e físico-química das emulsões controle, com cafeína, com cafeína + benzoato de sódio e com Cafeisilane® C, durante o estudo de estabilidade acelerada.

Condições		Ambiente			Estufa			Ciclo gela/degela			Freezer	Luz solar indireta		
tempo (dias)		t ₀	7°	14°	1°	3°	7°	6°	12°	7°	3°	7°	12°	
pH	E	5,49	4,71	4,68	4,86	4,80	4,42	4,80	4,47	4,92	5,60	5,56	4,73	
	EC	5,88	5,11	5,24	5,21	5,04	5,04	6,20	5,89	5,37	6,22	6,05	6,47	
	ECB	6,48	6,22	6,24	6,25	6,25	6,17	6,28	6,09	6,32	6,41	6,43	6,41	
	ECS	6,73	5,51	5,27	5,75	6,58	5,46	6,70	5,35	5,71	5,80	7,13	5,38	
visc. (cP)	E	1200	1200	1200	1300	1500	1700	1300	2200	1800	1100	1100	1300	
	EC	1900	1500	2100	2200	1900	2000	n/d	n/d	2400	1900	1800	2000	
	ECB	1400	1300	1600	1500	1700	1800	1800	n/d	2400	1500	1400	1500	
	ECS	1200	1400	1500	1600	1500	1700	1700	n/d	2400	1200	1400	1400	
aspecto	E	N	N	N	N	N	N	M	M	M	N	N	N	
	EC	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	
	ECB	N	N	N	N	N	N	M	M	M	N	N	N	
	ECS	N	N	N	N	N	N	M	M	M	N	N	N	
cor	E	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
	EC	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
	ECB	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
	ECS	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
odor	E	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
	EC	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
	ECB	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
	ECS	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
micro	E	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
	EC	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	
	ECB	M	M	N	M	M	N	N	N	N	M	N	N	
	ECS	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	

Legenda: Condições: t₀: após 24 h do preparo; Ambiente: 22° C; Estufa: 45° C; Ciclo gela/ degela: -10° C/ 45° C; micro: avaliação microscópica; visc: viscosidade; E: emulsão controle; EC: emulsão com cafeína 4,0% p/p; ECB: emulsão com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p; ECS: emulsão com Cafeisilane® C 6,0% p/p; N: normal; M: modificado; IM: intensamente modificado; n/d: leitura não determinada pelo viscosímetro.

A Tabela 10 – Avaliação física e físico-química dos géis controle, com cafeína, com cafeína + benzoato de sódio e com Cafeisilane® C, durante o estudo de estabilidade acelerada.

Condições	Ambiente		Estufa			Ciclo gela/degela		Freezer	Luz solar indireta				
	t ₀	7°	14°	1°	3°	7°	6°	12°	7°	3°	7°	12°	
tempo (dias)	G	6,23	6,27	6,20	6,22	6,21	6,30	6,21	6,20	6,21	6,28	6,21	6,32
	GC	6,30	6,27	6,22	6,22	6,20	6,26	6,31	6,29	6,25	6,27	6,27	6,33
	GCB	6,37	6,43	6,35	6,35	6,33	6,40	6,35	6,38	6,38	6,38	6,36	6,40
	GCS	6,19	6,08	6,05	6,15	6,09	6,11	6,08	6,09	6,11	6,12	6,09	6,20
visc. (cP)	G	61400	66300	64000	63800	60800	59400	n/d	n/d	5400	67000	64800	65500
	GC	77200	n/d	n/d	82700	68900	73000	n/d	75600	11300	81500	n/d	n/d
	GCB	64600	73100	72100	68300	70300	70300	69000	68000	29200	70300	72400	68800
	GCS	66000	73900	71600	80600	71700	66400	79500	56200	11900	70800	71300	68300
aspecto	G	N	N	N	N	N	N	LM	LM	LM	N	N	N
	GC	IM	IM	IM	IM	IM	IM	LM	LM	N	N	N	N
	GCB	N	N	N	N	N	N	LM	LM	N	N	N	N
	GCS	N	N	N	N	N	N	LM	LM	N	N	N	N
cor	G	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	GC	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM
	GCB	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	GCS	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
odor	G	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	GC	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	GCB	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	GCS	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
micro	G	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	GC	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM
	GCB	N	N	N	M	N	N	N	N	N	N	N	N
	GCS	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Legenda: Condições: t₀: após 24 h do preparo; Ambiente: 22° C; Estufa: 45° C; Ciclo gela/ degela: -10° C/ 45° C; micro: avaliação microscópica; visc: viscosidade; G: gel controle; GC: gel com cafeína 4,0% p/p; GCB: gel com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p; GCS: gel com Cafeisilane® C 6,0% p/p; N: normal; M: modificado; IM: intensamente modificado; n/d: leitura não determinada pelo viscosímetro.

Analisando a **Tabela 9** observou-se que a maior variação do valor de pH na emulsão controle e com cafeína ocorreu na condição de estufa a 45° C sendo de 1,07 e 0,84 unidade de pH, respectivamente. Na emulsão com cafeína + benzoato de sódio (**Tabela 9**), não se observou diferença considerável, sendo a maior variação no ciclo gela/degela (0,39). Na emulsão com Cafeisilane® C (**Tabela 9**) verificou-se a maior variação de pH a 22° C (1,46) indicando que o acerto do valor de pH após o preparo com trietanolamina ou ácido cítrico não foi adequado para manter as formulações estáveis, sendo necessária a pesquisa de um sistema tampão adequado para esta forma cosmética (emulsão).

As preparações na forma cosmética gel (**Tabela 10**) não apresentaram alterações consideráveis no valor do pH, sendo a maior variação de 0,14, a temperatura de 22° C para o gel com Cafeisilane® C, indicando que o sistema tampão (ácido cítrico/hidrogenofosfato dissódico) foi eficaz.

Considerando a viscosidade aparente da emulsão com cafeína (**Tabela 9**), verificamos leve aumento em todas as condições avaliadas, sendo que a -10° C (freezer) ocorreu maior aumento (26,3%). Provavelmente essa variação ocorreu devido a intensa alteração no aspecto, com formação de diversos cristais de cafeína nestas condições, apresentando um aspecto arenoso à emulsão.

De maneira similar ao descrito anteriormente, os valores de viscosidade aparente das emulsões com cafeína + benzoato de sódio e Cafeisilane® C (**Tabela 9**) apresentaram maiores alterações na condição de freezer, onde se observou aumento de 71,4% e 100%, respectivamente e seus aspectos alterados, com formação de cristais de cafeína. Provavelmente essa alteração ocorreu devido a geleificação do álcool cetoestearílico em baixas temperaturas, na forma cosmética de emulsão (SAMPAIO, 2001).

O aspecto da emulsão com cafeína apresentou-se intensamente alterada, com formação de muitos cristais de cafeína quando comparado

com a emulsão controle, devido a não utilização do agente auxiliar de solubilização, o benzoato de sódio (**Tabela 9**).

A emulsão com cafeína + benzoato de sódio apresentou características organolépticas adequadas, indicando a presença de cristais de cafeína, somente quando observado no microscópio (**Tabela 9**).

A emulsão com Cafeisilane[®] C apresentou características organolépticas adequadas, indicando alteração apenas nas condições do ciclo gela/degela e freezer, com formação de alguns cristais de cafeína devido à diminuição da temperatura (**Tabela 9**).

Da mesma maneira que observado para as emulsões, todas as preparações dos géis apresentaram alteração acentuada no valor das viscosidades aparente na condição de freezer, sendo que o gel controle apresentou maior redução (91,2%).

Quando se comparou o valor da viscosidade aparente da emulsão e gel controle com as suas preparações contendo substâncias ativas (cafeína e Cafeisilane[®] C) observou-se aumento no valor da viscosidade em todas as formulações (**Tabelas 9 e 10**).

As características organolépticas (aspecto, cor e odor) do gel com cafeína foram intensamente alteradas, com formação de muitos cristais de cafeína quando comparado com o gel controle, indicando a importância do auxiliar de solubilização nas formulações com cafeína (**Tabela 10**). As condições de baixa temperatura não se apresentaram convenientes para o armazenamento tanto da emulsão como do gel com cafeína.

Os géis com cafeína + benzoato de sódio e com Cafeisilane[®] C apresentaram características organolépticas adequadas em todas as condições estudadas (**Tabela 10**).

5.7 Avaliação histológica após aplicação das formulações

5.7.1 Emulsão controle

O diâmetro e o número das células adiposas em cada corte foi calculado pela média aritmética de três medidas, obtidas pelo programa KS 300 3.0.

As **Tabela 11** e **12** apresentam o diâmetro e número das células adiposas, respectivamente, das ratas de número 1 a 10 submetidas a aplicação de emulsão controle.

Na rata número 1 somente foi possível determinar o diâmetro em 2 campos visuais não coincidentes, totalmente preenchidos, bem nítidos e íntegros.

Tabela 11 – Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região controle (sem substância ativa) das ratas de números 1 a 10, que receberam tratamento com emulsão 7.

Diâmetro (μm) e CV (%)								
N	X_1	CV (%)	X_2	CV (%)	X_3	CV (%)	$m \pm dp$	CV (%)
C1	-	-	180,38	26,46	184,17	20,38	$182,28 \pm 2,68$	1,47
C2	138,09	13,04	138,65	27,44	165,93	32	$147,56 \pm 15,91$	10,78
C3	133,26	27,34	114,52	19,47	159,89	13,72	$135,89 \pm 22,80$	16,78
C4	167,6	5,04	172,03	31,46	167,78	27,04	$169,14 \pm 2,51$	1,48
C5	141,98	41,12	146,59	19,61	164,99	5,16	$151,19 \pm 12,65$	8,37
C6	137,46	22,38	140,43	19,84	138,04	16,04	$138,68 \pm 1,63$	1,18
C7	157,38	5,96	155,29	19,28	155,04	8,23	$155,90 \pm 1,28$	0,82
C8	157,95	29,3	125,06	26,76	114,84	24,28	$132,62 \pm 22,53$	16,99
C9	160,54	25,5	144,63	21,13	124,54	23,59	$143,24 \pm 18,04$	12,59
C10	139,45	21,53	143,45	23,92	132,17	21,71	$138,36 \pm 5,72$	4,13
$m_f \pm dp_f$							$149,48 \pm 15,84$	10,6

Legenda:

N: número da rata; C: emulsão controle; $m \pm dp$: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; $m_f \pm dp_f$: média final $\pm$ desvio padrão final; CV (%): coeficiente de variação; X_1 a X_3 leitura do diâmetro em triplicata.

Tabela 12 – Contagem das células adiposas na região controle (sem substância ativa) das ratas de números 1 a 10 que receberam tratamento com emulsão controle, a partir de 3 imagens de cortes verticais.

Número de células adiposas					
N	X ₁	X ₂	X ₃	m ± dp	CV (%)
C 1	-	17	14	16 ± 2	12,5
C 2	28	23	21	24 ± 4	16,67
C 3	21	26	19	22 ± 4	18,18
C 4	23	21	15	20 ± 4	20,0
C 5	19	16	19	18 ± 2	11,11
C 6	21	21	29	24 ± 5	20,83
C 7	27	29	19	25 ± 5	20,0
C 8	36	21	29	29 ± 8	27,59
C 9	25	25	33	28 ± 5	17,86
C 10	28	25	26	26 ± 2	7,7
m _f ± dp _f				22 ± 4	18,18

Legenda:

N: número da rata; C: emulsão controle; m ± dp: média ± desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f ± dp_f: média final ± desvio padrão final; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do número em triplicata.

5.7.2 Emulsão com cafeína 4% p/p

As Tabelas 13 e 14 apresentam o diâmetro e número das células adiposas respectivamente, das ratas de número 1 a 10 tratadas com emulsão com cafeína 4% p/p.

Tabela 13 - Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com emulsão com cafeína 4% p/p das ratas de números 1 a 10.

Diâmetro (μm) e CV (%)								
N	X ₁	CV (%)	X ₂	CV (%)	X ₃	CV (%)	m $\pm$ dp	CV (%)
EC1	109,35	18,61	110,3	17,9	112,35	9,67	110,67 $\pm$ 1,53	1,38
EC2	135,42	17,74	121,03	21,57	135,22	21,25	130,56 $\pm$ 8,25	6,32
EC3	106,8	17,49	112,4	19,64	121,5	14,67	113,57 $\pm$ 7,42	6,53
EC4	129,26	15,84	140,79	15,89	143,7	18,18	137,92 $\pm$ 7,64	5,54
EC5	160,61	17,13	166,03	15,47	130,55	16,34	152,40 $\pm$ 19,1	12,53
EC6	127,06	19	129,17	19,43	132,32	15,97	129,52 $\pm$ 2,65	2,05
EC7	118,56	21,01	118,14	22,32	130,69	17,2	122,46 $\pm$ 7,13	5,82
EC8	125,3	13,72	118,08	22,64	118,08	22,64	120,49 $\pm$ 4,17	3,46
EC9	118,08	22,64	118,08	22,64	118,08	22,64	118,08 $\pm$ 0,00	0
EC10	110,73	21,42	108,22	18,49	111,52	17,85	110,16 $\pm$ 1,72	1,56
m _f $\pm$ dp _f							124,58 $\pm$ 13,33	10,7

Legenda:

N: número da rata; EC: emulsão com cafeína 4,0% p/p; m $\pm$ dp: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f $\pm$ dp_f: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do diâmetro em triplicata.

Tabela 14 – Contagem das células adiposas na região tratada com emulsão com cafeína 4% p/p das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais.

Número de células adiposas					
N	X ₁	X ₂	X ₃	m $\pm$ dp	CV (%)
EC1	13	10	12	12 $\pm$ 2	16,67
EC2	23	19	21	21 $\pm$ 2	9,52
EC3	30	19	12	20 $\pm$ 9	45,0
EC4	42	37	29	36 $\pm$ 7	19,44
EC5	19	17	15	17 $\pm$ 2	11,76
EC6	24	26	35	28 $\pm$ 6	21,43
EC7	30	35	35	33 $\pm$ 3	9,09
EC8	15	20	20	18 $\pm$ 3	16,67
EC9	20	20	20	20 $\pm$ 0	0
EC10	35	32	30	32 $\pm$ 3	9,38
m _f $\pm$ dp _f				24 $\pm$ 8	33,33

Legenda:

N: número da rata; EC: emulsão com cafeína 4,0% p/p; m $\pm$ dp: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f $\pm$ dp_f: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do número em triplicata.

5.7.3 Emulsão com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p

As Tabelas 15 e 16 apresentam o diâmetro e número das células adiposas, respectivamente, das ratas de número 1 a 10 tratadas com emulsão de cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p.

Tabela 15 - Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com emulsões de cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p, das ratas de números 1 a 10.

Diâmetro (μm) e CV (%)								
N	X ₁	CV (%)	X ₂	CV (%)	X ₃	CV (%)	m $\pm$ dp	CV (%)
ECB1	133,65	25,22	134,56	323,81	144,97	24,75	137,73 $\pm$ 6,29	4,57
ECB2	137,7	19,4	126,33	19,72	108,37	33,65	124,13 $\pm$ 14,13	11,38
ECB3	165,49	19,8	177,66	34,91	174,88	14,35	172,68 $\pm$ 6,38	3,69
ECB4	163,65	25,57	171,84	17,37	184,1	23,52	173,20 $\pm$ 10,29	5,94
ECB5	161,27	18,62	138,38	22,65	139,9	23,85	146,52 $\pm$ 12,80	8,74
ECB6	143,81	20,29	145,05	19,01	154,43	18,77	147,76 $\pm$ 5,81	3,93
ECB7	172,97	19,54	164,04	18,77	167,92	18,58	168,31 $\pm$ 4,48	2,66
ECB8	156,39	16,74	117,53	25,25	113,49	15,68	129,14 $\pm$ 23,69	18,34
ECB9	144,91	14,27	160,17	17,31	137,66	25,52	147,58 $\pm$ 11,49	7,78
ECB10	131,62	24	135,93	19,98	135,26	20,08	134,27 $\pm$ 2,32	1,72
m _f $\pm$ dp _f							148,13 $\pm$ 17,88	12,07

Legenda: N: número da rata; ECB: emulsão com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p; m $\pm$ dp: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f $\pm$ dp_f: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do diâmetro em triplicata.

Tabela 16 - Contagem das células adiposas na região tratada com emulsão de cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais.

Número de células adiposas					
N	X ₁	X ₂	X ₃	m $\pm$ dp	CV (%)
ECB1	33	23	23	26 $\pm$ 6	23,08
ECB2	27	21	29	26 $\pm$ 4	15,38
ECB3	23	10	12	15 $\pm$ 7	46,67
ECB4	11	18	16	15 $\pm$ 4	26,67
ECB5	22	36	37	32 $\pm$ 8	25,0
ECB6	43	36	24	34 $\pm$ 10	29,41
ECB7	22	22	24	23 $\pm$ 1	4,35
ECB8	19	14	15	16 $\pm$ 3	18,75
ECB9	15	12	28	18 $\pm$ 9	50,0
ECB10	30	23	32	28 $\pm$ 5	17,86
m _f $\pm$ dp _f				23 $\pm$ 7	30,43

Legenda: N: número da rata; ECB: emulsão com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p; m $\pm$ dp: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f $\pm$ dp_f: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do número em triplicata.

5.7.4 Emulsão com Cafeisilane® C 6% p/p

As Tabelas 17 e 18 apresentam o diâmetro e o número das células adiposas, respectivamente, das ratas de número 1 a 10 tratadas com emulsão de Cafeisilane® C 6% p/p.

Tabela 17 - Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com emulsões com Cafeisilane® C 6% p/p das ratas de números 1 a 10.

Diâmetro (μm) e CV (%)								
N	X_1	CV (%)	X_2	CV (%)	X_3	CV (%)	$m \pm dp$	CV (%)
ECS1	123,01	36,56	117,96	12,76	106,24	14,12	$115,74 \pm 8,60$	7,43
ECS2	137,67	18,23	108,26	29,73	120,7	23,55	$122,21 \pm 14,76$	12,08
ECS3	106,81	23,28	114,3	24,49	114,52	19,47	$111,88 \pm 4,39$	3,92
ECS4	121,04	19,2	158,69	23,25	145,85	27,37	$141,86 \pm 9,14$	6,44
ECS5	140,97	15,55	133,25	18,29	142,72	24	$139,08 \pm 4,87$	3,5
ECS6	135,51	5,96	136,66	13,62	129,42	19,14	$133,86 \pm 3,89$	2,91
ECS7	114,59	13,36	112	14,53	117,6	11,64	$114,73 \pm 2,80$	2,44
ECS8	104,06	19,92	134,52	5,71	128,81	33,11	$122,46 \pm 6,19$	5,05
ECS9	144,15	22,04	131,2	35,28	124,2	14,82	$139,01 \pm 6,88$	7,14
ECS10	108,26	18,1	112,74	27,28	124,2	14,82	$115,07 \pm 8,22$	7,14
$m_f \pm dp_f$							$125,59 \pm 1,69$	1,34

Legenda: N: número da rata; ECS: emulsão com Cafeisilane® C 6% p/p; $m \pm dp$: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; $m_f \pm dp_f$: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; $X_{1 \text{ a } 3}$ leitura do diâmetro em triplicata.

Tabela 18 - Contagem das células adiposas na região tratada com emulsão de Cafeisilane® C 6% p/p das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais.

Número de células adiposas					
N	X_1	X_2	X_3	$m \pm dp$	CV (%)
ECS1	17	5	18	13 ± 7	53,85
ECS2	18	14	20	17 ± 3	17,64
ECS3	22	11	16	16 ± 6	37,5
ECS4	20	24	28	24 ± 4	16,67
ECS5	7	17	22	15 ± 8	53,33
ECS6	18	19	14	17 ± 3	17,64
ECS7	10	10	7	9 ± 2	22,22
ECS8	3	6	3	4 ± 2	50,0
ECS9	9	13	18	13 ± 5	38,46
ECS10	8	15	9	11 ± 4	36,36
$m_f \pm dp_f$				15 ± 6	40,0

Legenda: N: número da rata; ECS: emulsão com Cafeisilane® C 6,0% p/p; $m \pm dp$: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; $m_f \pm dp_f$: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; $X_{1 \text{ a } 3}$ leitura do número em triplicata.

A **Tabela 19** apresenta a razão entre os valores dos diâmetros de células adiposas da região tratada com emulsões com cafeína (EC), cafeína + benzoato de sódio (ECB) e Cafeisilane® C (ECS) em relação a região tratada com emulsão controle (C).

Tabela 19 – Razão entre os valores de diâmetro das células adiposas das regiões tratadas com emulsões em relação ao controle.

Número da rata	EC/C	ECB/C	ECS/C
1	0,61	0,76	0,63
2	0,88	0,84	0,83
3	0,67	1,27	0,82
4	0,82	1,02	0,84
5	1,01	0,97	0,92
6	0,93	1,07	0,97
7	0,79	1,08	0,74
8	0,91	0,97	0,92
9	0,82	1,03	0,97
10	0,80	0,97	0,83
Média	0,83	0,99	0,84

Legenda: EC/C: razão entre emulsão com cafeína e controle; ECB/C: razão entre emulsão com cafeína + benzoato de sódio e controle; ECS/C: razão entre emulsão com Cafeisilane® C e controle.

A **Figura 16** apresenta a percentagem de redução do diâmetro de células adiposas tratadas com as emulsões com as substâncias ativas em relação à emulsão controle.

Figura 16 - Representação gráfica da redução do diâmetro de células adiposas tratadas com as emulsões com as substâncias ativas em relação à emulsão controle.

Legenda: EC/C: razão entre emulsão com cafeína e emulsão controle; ECB/C: razão entre emulsão com cafeína + benzoato de sódio e emulsão controle; ECS/C: razão entre emulsão com Cafeisilane® C e emulsão controle.

A **Tabela 20** apresenta a razão entre os valores dos números de células adiposas da região tratada com emulsões com cafeína (EC), cafeína + benzoato de sódio (ECB) e Cafeisilane[®] C (ECS) em relação a região tratada com emulsão controle (C).

Tabela 20 – Razão entre os valores do número de células adiposas das regiões tratadas com emulsões em relação ao controle.

Número da rata	EC/C	ECB/C	ECS/C
1	0,75	1,63	0,81
2	0,88	1,08	0,71
3	0,91	0,68	0,73
4	1,8	1,78	1,2
5	0,94	0,92	0,83
6	1,16	1,41	0,71
7	1,32	0,92	0,36
8	0,62	0,55	0,14
9	0,71	0,64	0,46
10	1,23	1,07	0,42
Média	1,09	1,05	0,68

Legenda: EC/C: razão entre emulsão com cafeína e emulsão controle; ECB/C: razão entre emulsão com cafeína + benzoato de sódio e emulsão controle; ECS/C: razão entre emulsão com Cafeisilane[®] C e emulsão controle.

A **Figura 17** apresenta a percentagem de redução do número de células adiposas tratadas com as emulsões com as substâncias ativas em relação à emulsão controle.

Figura 17 - Representação gráfica da redução do número de células adiposas tratadas com emulsão com cafeína (EC), cafeína + benzoato de sódio (ECB) e Cafeisilane[®] C em relação à emulsão controle (C).

Legenda: EC/C: razão entre emulsão com cafeína e emulsão controle; ECB/C: razão entre emulsão com cafeína + benzoato de sódio e emulsão controle; ECS/C: razão entre emulsão com Cafeisilane[®] C e emulsão controle.

A **Tabela 21** apresenta a razão entre os valores dos diâmetros e números de células adiposas, respectivamente, da região tratada com cafeína (EC) em relação a região tratada com emulsão com cafeína + benzoato de sódio (ECB).

Tabela 21 – Razão entre os valores de diâmetro e número de células adiposas, das regiões tratadas com emulsão com cafeína em relação a região tratada com emulsão com cafeína + benzoato de sódio.

Número da rata	Diâmetro EC/ECB	Número de células EC/ECB
1	0,80	0,46
2	1,05	0,81
3	0,66	1,33
4	0,80	2,4
5	1,04	0,53
6	0,88	0,82
7	0,73	1,43
8	0,93	1,13
9	0,80	1,11
10	0,82	1,14
Média	0,84	1,04

Legenda:

EC/ECB: razão entre emulsão com cafeína e emulsão com cafeína + benzoato de sódio.

A **Figura 18** apresenta a percentagem de redução do diâmetro e número de células adiposas, respectivamente, tratadas com as emulsões com cafeína (EC) em relação à emulsão com cafeína + benzoato de sódio (ECB).

Figura 18 - Representação gráfica da redução do diâmetro e número de células adiposas tratadas com emulsão com cafeína em relação à emulsão com cafeína + benzoato de sódio.

5.7.5 Gel controle

As **Tabelas 22 e 23** apresentam o diâmetro e número das células adiposas, respectivamente, das ratas de número 1 a 10 submetidas a aplicação de gel controle.

Não foi possível realizar as medidas dos diâmetros dos cortes G9 e G10 (região controle das ratas de número 9 e 10) devido à insuficiência de campos com as características padronizadas no item **4.2.10.3**.

Tabela 22 - Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região controle do gel das ratas de números 1 a 10.

Diâmetro (μm) e CV (%)								
N	X_1	CV (%)	X_2	CV (%)	X_3	CV (%)	$m \pm dp$	CV (%)
G1	125,02	12,75	126,72	24,35	111,02	27,78	$120,92 \pm 8,62$	7,12
G2	105,06	17,49	166,12	17,16	158,09	15,31	$143,09 \pm 33,18$	23,19
G3	126,6	17,2	101,66	25,98	117,82	23,48	$115,36 \pm 12,65$	10,97
G4	136,82	22,2	146,67	27,31	109,18	24,54	$130,89 \pm 19,44$	14,85
G5	139,93	20,75	138,18	20,88	140,11	23,77	$139,41 \pm 1,07$	0,77
G6	92,06	20,19	137,62	14,07	122,98	19,4	$117,55 \pm 23,26$	19,79
G7	116,95	24,31	112,12	24,43	129,74	25,75	$119,60 \pm 9,10$	7,61
G8	107,63	26,8	124,76	20,09	114,23	15,02	$115,54 \pm 8,64$	7,48
G9	-	-	-	-	-	-	-	-
G10	-	-	-	-	-	-	-	-
$m \pm dp$							$125,30 \pm 11,04$	8,81

Legenda:

N: número da rata; G: gel controle; (-): leitura não realizada; $m \pm dp$: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; $m_f \pm dp_f$: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_1 a X_3 leitura do diâmetro em triplicata.

Tabela 23 - Contagem das células adiposas na região de gel controle das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais.

Número de células adiposas					
N	X ₁	X ₂	X ₃	m ± dp	CV (%)
G1	14	16	11	14 ± 3	21,43
G2	10	16	17	14 ± 4	28,57
G3	19	20	17	19 ± 2	10,53
G4	26	14	23	21 ± 6	28,57
G5	23	23	17	21 ± 3	14,29
G6	21	19	15	18 ± 3	16,67
G7	13	14	19	15 ± 3	20,0
G8	27	24	18	23 ± 5	21,74
G9	-	-	-	-	-
G10	-	-	-	-	-
m _f ± dp _f				18 ± 3	16,67

Legenda:

N: número da rata; G: gel controle; (-): leitura não realizada; m: média, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f: média final; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do número em triplicata.

5.7.6 Gel com cafeína 4% p/p

As **Tabelas 24** e **25** apresentam o diâmetro e número das células adiposas, respectivamente, das ratas de número 1 a 10 tratadas com gel de cafeína 4% p/p.

Não foi possível realizar as medidas dos diâmetros dos cortes GC2, GC3 e GC9 (região tratada com gel de cafeína das ratas de número 2, 3 e 9) devido à insuficiência de campos com as características padronizadas no item **4.2.9.3**.

Tabela 24 - Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com géis de cafeína 4% p/p das ratas de números 1 a 10.

N	Diâmetro (μm) e CV (%)						m $\pm$ dp	CV (%)
	X ₁	CV (%)	X ₂	CV (%)	X ₃	CV (%)		
GC1	127,87	18,84	121,47	16,03	129,14	14,91	126,16 $\pm$ 4,11	3,26
GC2	-	-	-	-	-	-	-	-
GC3	-	-	-	-	-	-	-	-
GC4	134,66	17,34	142,17	16,63	143,46	14,57	140,06 $\pm$ 4,72	3,37
GC5	105,45	16,65	110,03	14,35	104,11	20,59	106,53 $\pm$ 3,10	2,91
GC6	96,93	18,5	97,8	17,9	109,77	16,03	101,50 $\pm$ 7,18	7,07
GC7	143,09	15,86	157,42	23,2	155,55	16,14	152,02 $\pm$ 7,79	5,12
GC8	131,36	23,71	131,64	21,25	138,04	24,84	133,68 $\pm$ 3,78	2,83
GC9	-	-	-	-	-	-	-	-
GC10	103,15	17,76	101,54	23,94	117,58	16,58	107,42 $\pm$ 8,83	8,22
m _f $\pm$ dp _f							123,91 $\pm$ 19,27	15,55

Legenda:

N: número da rata; GC: gel com cafeína 4,0% p/p; (-): leitura não realizada; m $\pm$ dp: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f $\pm$ dp_f: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do diâmetro em triplicata.

Tabela 25 - Contagem das células adiposas na região tratada com gel de cafeína 4% p/p das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais.

N	Número de células adiposas				
	X ₁	X ₂	X ₃	m $\pm$ dp	CV (%)
GC1	19	20	22	20 $\pm$ 2	10,0
GC2	-	-	-	-	-
GC3	-	-	-	-	-
GC4	28	26	19	24 $\pm$ 5	20,83
GC5	25	29	23	26 $\pm$ 3	11,54
GC6	21	21	23	22 $\pm$ 1	4,54
GC7	21	12	17	17 $\pm$ 5	29,41
GC8	27	28	15	23 $\pm$ 7	30,43
GC9	-	-	-	-	-
GC10	14	9	12	12 $\pm$ 3	25,0
m _f $\pm$ dp _f				21 $\pm$ 5	23,81

Legenda:

N: número da rata; GC: gel com cafeína 4,0% p/p; (-): leitura não realizada; m $\pm$ dp: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f $\pm$ dp_f: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do número em triplicata.

5.7.7 Gel com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p

As Tabelas 26 e 27 apresentam o diâmetro e número das células adiposas, respectivamente, das ratas de número 1 a 10 tratadas com gel com cafeína + benzoato de sódio, ambos a 4% p/p.

Somente foi possível a medida do diâmetro em um campo, no corte GCB10 (região tratada com gel de cafeína + benzoato de sódio da rata de número 10) devido à insuficiência de campos com as características padronizadas no item 4.2.9.3.

Tabela 26 - Valores dos diâmetros das células adiposas (μm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com géis de cafeína + benzoato de sódio, ambos a 4% p/p, das ratas de números 1 a 10.

N	Diâmetro (μm) e CV (%)						$m \pm dp$	CV (%)
	X_1	CV (%)	X_2	CV (%)	X_3	CV (%)		
GCB1	121,41	21,29	107,62	21,99	102,19	31,85	110,41 $\pm$ 9,91	8,98
GCB2	119,73	21,54	103,31	34,72	96,71	22,6	106,58 $\pm$ 11,85	11,11
GCB3	127,74	12,96	144,59	14,94	137,24	16,77	136,52 $\pm$ 8,45	6,19
GCB4	129,19	25,44	136,92	28,48	108,03	32,05	124,71 $\pm$ 14,96	11,99
GCB5	92,04	36,64	116,94	26,06	99,37	22,21	102,78 $\pm$ 12,80	12,45
GCB6	133,35	30,75	153,35	26,63	131,02	19,46	139,24 $\pm$ 12,28	8,82
GCB7	155,27	15,44	148,54	18,08	152,69	17,09	152,17 $\pm$ 3,40	2,23
GCB8	131,02	19,46	132,09	26,59	140,46	24,51	134,52 $\pm$ 5,17	3,84
GCB9	114,31	25,68	131,21	32,31	127,57	27,33	124,36 $\pm$ 8,89	7,15
GCB10	110,62	16,59	-	-	-	-	110,62 $\pm$ 0,00	0
$m \pm dp$							124,19 $\pm$ 16,61	13,37

Legenda:

N: número da rata; GCB: gel com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p; (-): leitura não realizada; $m \pm dp$: média $\pm$ desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; $m_f \pm dp_f$: média final $\pm$ desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; $X_{1 \text{ a } 3}$ leitura do diâmetro em triplicata.

Tabela 27 - Contagem das células adiposas na região tratada com gel de cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais.

Número de células adiposas					
N	X ₁	X ₂	X ₃	m ± dp	CV (%)
GCB1	16	21	13	17 ± 4	23,53
GCB2	7	14	21	14 ± 7	50,0
GCB3	14	12	19	15 ± 4	26,67
GCB4	19	19	6	15 ± 8	53,33
GCB5	10	12	11	11 ± 1	9,1
GCB6	27	28	21	25 ± 4	16,0
GCB7	36	33	40	36 ± 4	11,11
GCB8	24	27	23	25 ± 2	8,0
GCB9	19	27	27	24 ± 5	20,83
GCB10	11	-	-	11 ± 0	0
m _f ± dp _f				20 ± 8	23,33

Legenda: Número da rata; GCB: gel com cafeína 4,0 + benzoato de sódio ambos a 4,0% p/p; (-): leitura não realizada; m ± dp: média ± desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f ± dp_f: média final ± desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do número em triplicata.

5.7.8 Gel com Cafeisilane® C 6,0%p/p.

As Tabelas 28 e 29 apresentam o diâmetro e número das células adiposas, respectivamente, das ratas de número 1 a 10 tratadas com gel com Cafeisilane® C 6,0% p/p.

Tabela 28 - Valores dos diâmetros das células adiposas (µm) em cortes verticais correspondentes à região tratada com géis de Cafeisilane® C 6,0%p/p das ratas de números 1 a 10.

Diâmetro (µm) e CV (%)								
N	X ₁	CV (%)	X ₂	CV (%)	X ₃	CV (%)	m ± dp	CV (%)
GCS1	122,79	21,92	100,77	19,42	120,79	23,94	114,78 ± 12,18	10,61
GCS2	139,78	28,17	129,48	28,14	158,21	7,91	142,49 ± 14,56	10,22
GCS3	129,15	24,15	110,66	22,16	82,64	23,38	107,48 ± 23,42	21,79
GCS4	138,85	13,53	121,1	17,22	115,89	18,38	125,28 ± 12,04	9,61
GCS5	128,34	32,21	136,46	39,9	131,93	24,51	132,24 ± 4,07	3,08
GCS6	107,45	22,99	105,66	21,45	105,02	17,03	106,04 ± 1,26	1,19
GCS7	158,89	17,31	154,13	25,28	147,38	15,48	153,47 ± 5,78	3,77
GCS8	123,42	12,81	134,49	20,7	131,24	18,29	129,72 ± 5,69	4,39
GCS9	111,36	19,02	104,55	18,96	101,89	25,56	105,93 ± 4,88	4,61
GCS10	94,71	14,37	99,36	18,94	127,26	18,61	107,11 ± 17,60	16,43
m _f ± dp _f							122,46 ± 16,67	13,61

Legenda: N: número da rata; GCS: gel com Cafeisilane® C 6,0% p/p; m ± dp: média ± desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f ± dp_f: média final ± desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do diâmetro em triplicata.

Tabela 29 - Contagem das células adiposas na região tratada com gel de Cafeisilane® C 6,0% p/p das ratas de números 1 a 10, a partir de 3 imagens de cortes verticais.

Número de células adiposas					
N	X₁	X₂	X₃	m ± dp	CV (%)
GCS1	3	2	4	3 ± 1	33,33
GCS2	21	22	4	16 ± 10	62,5
GCS3	8	9	5	7 ± 2	28,57
GCS4	13	10	9	11 ± 2	18,18
GCS5	3	7	17	9 ± 7	77,78
GCS6	12	25	11	16 ± 8	50,0
GCS7	30	29	26	28 ± 2	7,14
GCS8	9	17	11	12 ± 4	33,33
GCS9	12	17	22	17 ± 5	29,41
GCS10	11	12	6	10 ± 3	30,0
m_f ± dp_f				13 ± 7	53,85

Legenda:

N: número da rata; GCS: gel com Cafeisilane® C 6,0% p/p; m ± dp: média ± desvio padrão, considerando os valores encontrados nos três campos; m_f ± dp_f: média final ± desvio padrão; CV (%): coeficiente de variação; X_{1 a 3} leitura do número em triplicata.

A **Tabela 30** apresenta a razão entre os valores do diâmetro das células adiposas, da região tratada com gel de cafeína (GC), cafeína + benzoato de sódio (GCB) e Cafeisilane® C (GCS) em relação a região de gel controle (G).

Tabela 30- Razão entre os valores de diâmetro das células adiposas das regiões tratadas com gel em relação ao controle.

Número da rata	GC/G	GCB/G	GCS/G
1	1,04	0,91	0,95
2	-	0,74	0,99
3	-	1,18	0,93
4	1,07	0,95	0,96
5	0,76	0,74	0,95
6	0,86	1,18	0,90
7	1,27	1,27	1,28
8	1,16	1,16	1,12
9	-	-	-
10	-	-	-
Média	1,03	1,01	1,01

Legenda: GC/G: razão entre gel com cafeína e gel controle; GCB/C: razão entre gel com cafeína + benzoato de sódio e gel controle; GCS/C: razão entre gel com Cafeisilane® C e gel controle.

A **Figura 19** apresenta a percentagem de redução do diâmetro de células adiposas tratadas com os géis com as substâncias ativas em relação ao gel controle.

Figura 19 - Representação gráfica da redução do diâmetro de células adiposas tratadas com os géis com as substâncias ativas em relação ao gel controle.

Legenda: GC/C: razão entre gel com cafeína e gel controle; GCB/C: razão entre gel com cafeína + benzoato de sódio e gel controle; GCS/C: razão entre gel com Cafeisilane® C e gel controle.

A **Tabela 31** apresenta a razão entre os valores do número das células adiposas, da região tratada com gel de cafeína (GC), cafeína + benzoato de sódio (GCB) e Cafeisilane® C (GCS) em relação a região de gel controle (G).

Tabela 31 - Razão entre os valores de número de células adiposas das regiões tratadas com gel em relação ao controle.

Número da rata	GC/G	GCB/G	GCS/G
1	1,43	1,21	0,21
2	-	1,0	1,14
3	-	0,79	0,37
4	1,14	0,71	0,52
5	1,23	0,52	0,42
6	1,22	1,39	0,88
7	1,13	2,4	1,87
8	1,0	1,09	0,52
9	-	-	-
10	-	-	-
Média	1,14	1,14	0,74

Legenda: GC/G: razão entre gel com cafeína e gel controle; GCB/C: razão entre gel com cafeína + benzoato de sódio e gel controle; GCS/C: razão entre gel com Cafeisilane® C e gel controle.

A **Figura 20** apresenta a percentagem de redução do número de células adiposas tratadas com os géis com as substâncias ativas em relação ao gel controle.

Figura 20 - Representação gráfica da redução do número de células adiposas tratadas com géis com substâncias ativas em relação ao gel controle.

Legenda: GC/C: razão entre gel com cafeína e gel controle; GCB/C: razão entre gel com cafeína + benzoato de sódio e gel controle; GCS/C: razão entre gel com Cafeisilane® C e gel controle.

A **Tabela 32** apresenta a razão entre os valores do diâmetro e número das células adiposas, respectivamente, da região tratada com cafeína (GC) e região tratada com gel com cafeína + benzoato de sódio (GCB).

Tabela 32 – Razão entre os valores de diâmetro e número de células adiposas, das regiões tratadas com gel com cafeína em relação a região tratada com gel com cafeína + benzoato de sódio.

Número da rata	Diâmetro GC/GCB	Número de células GC/GCB
1	1,14	1,17
2	-	-
3	-	-
4	1,12	1,6
5	1,04	2,4
6	0,73	0,88
7	1,0	0,47
8	1,0	0,92
9	-	-
10	-	-
Média	1,0	1,24

Legenda: GC/GCB: razão entre gel com cafeína e gel com cafeína + benzoato de sódio.

A **Figura 21** apresenta a percentagem de redução do diâmetro e número de células adiposas, respectivamente, tratadas com o gel com cafeína em relação ao gel com cafeína + benzoato de sódio.

Figura 21 - Representação gráfica da redução do diâmetro e número de células adiposas tratadas com gel com cafeína em relação ao gel com cafeína + benzoato de sódio.

A emulsão com cafeína apresentou redução de 17,0% no diâmetro das células adiposas em relação à emulsão controle, conforme apresentado nas **Tabelas 11, 13 e 19**, sugerindo que apesar desta formulação nos estudos de estabilidade acelerada apresentar muitos cristais de cafeína, devido à supersaturação, esta substância ativa na forma livre solubilizada em água, provavelmente foi responsável pela ação lipolítica, resultando na redução do diâmetro das células adiposas.

Ao comparar o valor do diâmetro correspondente à região tratada com cafeína ($124,58 \pm 13,33 \mu\text{m}$, **Tabela 13**) com a região controle ($149,48 \pm 15,84 \mu\text{m}$, **Tabela 11**) utilizando o teste *t*, com um nível de confiança de 99%, os dois valores diferiram significativamente ($t_{\text{calculado}} = 4,78 > t_{\text{tabelado}} = 2,58$).e também para um nível de 95%, ($t_{\text{calculado}} = 4,78 > t_{\text{tabelado}} = 1,96$) (GUENTHER, 1972), indicando que houve redução significativa no diâmetro das células adiposas na pele tratada com emulsão com cafeína.

A emulsão com cafeína + benzoato de sódio praticamente não apresentou alteração nos valores dos diâmetros das células adiposas em

relação à emulsão controle (**Tabelas 11, 15 e 19**). Apesar do benzoato de sódio ser um auxiliar de solubilização da cafeína, melhorando o aspecto da formulação, por outro lado, reduziu a concentração da cafeína na forma livre, responsável pela ação lipolítica, uma vez que a redução das células adiposas foi praticamente desprezível, 1,0% em relação ao controle (**Tabela 19**).

Ao comparar o valor do diâmetro das células adiposas correspondente à região tratada com cafeína + benzoato de sódio (**148,13 ± 17,88 µm, Tabela 15**) com a emulsão controle (**149,48 ± 15,84 µm, Tabela 11**) utilizando o teste *t*, com um nível de confiança de 99%, os dois valores não diferiram significativamente ($t_{\text{calculado}} = 0,23 < t_{\text{tabelado}} = 2,58$) e também para um nível de 95%, ($t_{\text{calculado}} = 0,23 < t_{\text{tabelado}} = 1,96$) (GUENTHER, 1972), indicando que não houve redução significativa no diâmetro das células adiposas tratadas com emulsão de cafeína + benzoato de sódio.

A emulsão com Cafeisilane® C, apresentou redução nos valores dos diâmetros das células adiposas de 16,0% em relação ao controle (**Tabelas 11, 17 e 19**), indicando que a associação da cafeína com silício orgânico é cosmeticamente adequada, pois apresentou ação lipolítica mais intensa que a cafeína (4,0% p/p) em concentração inferior (6,0% p/p de Cafeisilane® C contém 4% de cafeína que resulta em 0,24% na formulação). Devido esta concentração reduzida da cafeína incorporada no Cafeisilane® C temos a explicação para a não formação de cristais. Estas observações concordam com a literatura na eficácia do Cafeisilane® C sozinha e comparado com a cafeína (CAFEISILANE® C; s/d; DI SALVO, 1995; EXSYMOL, s/d; PAULINO et al, 2002).

Ao comparar o valor do diâmetro dos adipócitos correspondente à região tratada com Cafeisilane® C (**125,59 ± 1,69 µm, Tabela 17**) com a emulsão controle (**149,48 ± 15,84 µm, Tabela 11**), utilizando o teste *t*, com um nível de confiança de 99%, os dois valores diferiram significativamente ($t_{\text{calculado}} = 4,62 > t_{\text{tabelado}} = 2,58$) e também para um nível de 95%, ($t_{\text{calculado}} = 4,62 > t_{\text{tabelado}} = 1,96$) (GUENTHER, 1972), comprovando estatisticamente

que houve redução significativa no valor do diâmetro das células adiposas em relação à emulsão controle.

Quando se comparou a emulsão de cafeína com a de cafeína + benzoato de sódio observou-se uma redução de 16% no diâmetro das células adiposas (**Tabelas 13, 15 e 21**), indicando que o benzoato de sódio está influenciando na ação da cafeína, provavelmente por estar ligada a mesma, resultando em menor concentração de cafeína disponível para reagir com os adipócitos.

Com relação ao número de células adiposas (**Tabelas 12, 14, 16 e 18**), somente a emulsão com Cafeisilane[®] C apresentou redução significativa de 32% em relação à emulsão controle, conforme apresentado na **tabela 20**, indicando que a aplicação da emulsão com Cafeisilane[®] C é mais eficaz do que com a cafeína, pois na preparação com esta última não se observou redução do número de células adiposas, apenas havendo a redução de seu diâmetro. Isso implicaria dizer que ao interromper o uso da emulsão com cafeína, provavelmente retornaria ao problema de acúmulo de gordura com maior rapidez do que no caso do uso da preparação com Cafeisilane[®] C.

Analisando as **tabelas 22, 24, 26, 28 e 30**, observou-se que praticamente não houve alteração significativa na medida dos diâmetros das células adiposas das ratas tratadas com os géis, comprovado estatisticamente utilizando-se o *teste t*. Ao comparar os resultados do gel com cafeína ($123,91 \pm 19,27 \mu\text{m}$, **Tabela 24**) e do controle ($125,30 \pm 11,04 \mu\text{m}$, **Tabela 22**) para o nível de 99% ($t_{\text{calculado}} = 0,21 < t_{\text{tabelado}} = 2,58$) e também para um nível de 95%, ($t_{\text{calculado}} = 0,21 < t_{\text{tabelado}} = 1,96$) %, não ocorreram diferenças estatisticamente significativas (GUENTHER, 1972).

Ao comparar os resultados do gel com cafeína + benzoato de sódio ($124,19 \pm 16,61 \mu\text{m}$, **Tabela 26**) e do controle ($125,30 \pm 11,04 \mu\text{m}$, **Tabela 22**) para o nível de confiança de 99% ($t_{\text{calculado}} = 0,14 < t_{\text{tabelado}} = 2,58$) e também para um nível de 95%, ($t_{\text{calculado}} = 0,14 < t_{\text{tabelado}} = 1,96$) %, os dois valores não diferiram significativamente (GUENTHER, 1972).

Ao comparar os resultados do gel com Cafeisilane[®] C ($122,46 \pm 16,67 \mu\text{m}$, Tabela 28) e do controle ($125,30 \pm 11,04 \mu\text{m}$, Tabela 22) para o nível de confiança de 99% ($t_{\text{calculado}} = 0,37 < t_{\text{tabelado}} = 2,58$) e também para um nível de 95%, ($t_{\text{calculado}} = 0,37 < t_{\text{tabelado}} = 1,96$) %, os dois valores não diferiram significativamente (GUENTHER, 1972), indicando que o Cafeisilane[®] C não produziu o mesmo efeito que a emulsão com esta substância ativa.

Analisando os resultados (Tabela 30 e 32), verificamos que a forma de gel não seria a forma cosmética mais adequada para a finalidade a que se destina, apesar de apresentar características organolépticas adequadas, permitiu com menor intensidade a penetração e permeação das substâncias ativas pela pele. Porém, quando se analisou a razão entre o número de células adiposas da região controle com a região tratada (Tabelas 23, 25, 27, 29 e 31), verificou-se que o gel com Cafeisilane[®] C apresentou redução de 26%, enquanto que as demais apresentaram aumento de 14%. Isto significa que a forma cosmética gel poderia ser empregada para o Cafeisilane[®] C, embora a emulsão ainda seja mais indicada.

5.7.9 Fotomicrografias de cortes verticais de pele de ratas da região controle e tratadas com emulsões e géis.

As Figuras 22 a 29 apresentam as fotomicrografias de pele das ratas tratadas com emulsão e gel controle e com as substâncias ativas (caféina e Cafeisilane[®] C).

Figura 22 – Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com emulsão controle da rata de número 4. Observar as células adiposas, preservadas e íntegras. Coloração por hematoxilina-eosina.

Figura 23 – Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com a emulsão com Cafeisilane®C 6% p/p da rata de número 4. Observar as células adiposas menores e alongadas e em menor quantidade em relação as tratadas com emulsão controle. Coloração por hematoxilina-eosina.

Figura 24 - Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com a emulsão com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p da rata de número 4. Observar as células adiposas maiores do que as tratadas com emulsão controle e emulsão com cafeína 4% p/p. Coloração por hematoxilina-eosina.

Figura 25 – Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com a emulsão de cafeína 4% p/p da rata de número 4. Observar as células adiposas menores em relação a região tratada com emulsão com cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p e controle. Coloração por hematoxilina-eosina.

Figura 26 - Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com gel controle da rata de número 8. Observar as células adiposas, preservadas e íntegras. Coloração por hematoxilina-eosina.

Figura 27 – Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com o gel com Cafeisilane®C 6% p/p da rata de número 8. Observar que não houve diferença no tamanho das células adiposas em relação ao gel controle. Coloração por hematoxilina-eosina.

Figura 28 - Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com gel de cafeína + benzoato de sódio ambos a 4% p/p da rata de número. Observar que não houve diferença no tamanho das células adiposas em relação ao gel controle. Coloração por hematoxilina-eosina.

Figura 29 – Fotomicrografia de corte vertical de pele da região tratada com o gel com cafeína 4% p/p da rata de número 8. Observar que não houve diferença no tamanho das células adiposas em relação ao gel controle. Coloração por hematoxilina-eosina.

Analisando as **(Figuras 22 a 25)** observa-se que as células adiposas tratadas com emulsão com Cafeisilane[®] C e emulsão com cafeína apresentaram redução nítida no diâmetro das células adiposas, sendo que na emulsão com Cafeisilane[®] C, observou-se também redução no número de células adiposas.

Nas fotomicrografias das peles tratadas com géis, **(Figuras 26 a 29)**, não se observaram alterações significativas no tamanho do diâmetro das células adiposas, porém no gel com Cafeisilane[®] C houve uma redução no número de células adiposas.

6 CONCLUSÕES

- 1- No desenvolvimento das preparações com benzoato de sódio não se observaram presença de cristais de cafeína na análise visual, elevando a estabilidade das formulações de emulsão e gel quando submetidas nas condições: temperatura ambiente (22° C), estufa (45° C), ciclo gela/degela (-10° C/ 45° C) e freezer (-10° C).
- 2- As formulações, emulsão 7, à base de cera emulsionante não iônica e gel 4, à base de hidroxietilcelulose apresentaram o melhor desempenho no estudo de estabilidade acelerada.
- 3- A utilização da solução tampão (ácido cítrico/hidrogenofosfato dissódico) nos géis com Cafeisilane® C permitiu manter o valor do pH no intervalo de 4,5 a 6,5, considerado favorável para a estabilidade.
- 4- As formulações de emulsão e gel com Cafeisilane® C apresentaram boas características microscópicas, sem formação de cristais de cafeína, mesmo no aumento de 100 x.
- 5- A adição de cafeína e Cafeisilane® C nas formulações de emulsão e gel promoveu aumento no valor da viscosidade aparente em até 58% para a emulsão e 26% para o gel, quando comparadas com as respectivas formulações controles.
- 6- A adição de benzoato de sódio prejudicou na ação lipolítica da cafeína, não ocorrendo redução significativa nos diâmetros das células adiposas quando comparado com a emulsão controle.

- 7- A emulsão com Cafeisilane[®] C apresentou melhor resultado na redução do diâmetro (16%) e diminuição do número (32%) das células adiposas, sendo considerada a mais indicada como auxiliar no tratamento da hidrolipodistrofia ginóide.
- 8- A forma cosmética gel apresentou-se menos adequada em relação à emulsão para veicular a cafeína e o Cafeisilane[®] C, pois não promoveu a redução do diâmetro das células adiposas, ocorrendo apenas redução no número de adipócitos (26%) no caso do gel com Cafeisilane[®] C.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACCÚRSIO, W. Celulite X Cafeína. **Rev. Cosmiatria Med. Estética**, São Paulo, v.7, n.4, p.25-6, 1999.
2. AGACHE, P., LAURENT, R., LARDANS, L., BLANC, D. Epiderme, pêlo, glândulas sebáceas e sudoríparas. In: _____. PRUNIÉRAS, M. **Manual de cosmetología dermatológica**. São Paulo: Organização Andrei, 1994. cap.1, p.17-81.
3. ALMA, J.M. Colocando a teoria em prática. **Rev. Multidiscip. Pers.**, São Paulo, v.4, n.15, p.25-29, 2001.
4. ANSEL, H.C., POPOVICH, N.G., ALLEN JUNIOR, L.V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000, p.261, 397-438, 493.
5. AZULAY, R.D. **Dermatologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985. p.43-91.
6. BANCROFT, J.D., STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1996. 766p.
7. BARATA, E.A.F. **A Cosmetologia: Princípios Básicos**. São Paulo: Tecnopress, 1995, p.13-20, 113-114.
8. BARONE, J.J., GRICE, H.C. Sixth International Caffeine Workshop, Hong Kong, 7-10 august, p.279-283, 1989.

* De acordo com a NBR6023/2000, preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI), 2002.

9. BARRY, B.W. **Dermatological formulations: percutaneous absorption**. New York: Marcel Dekker, 1983. v.18, p.1-48.
10. BENY, M. Fisiologia da pele, **Cosmet. Toiletries** (ed. Port.), São Paulo, v.12, n.2, p.44-50, 2000.
11. BERTIN, C., ZUNINO, H., PITTET, JC., BEAU, P., PINEAU, P., MASSONNEAU, M., ROBERT, C., HOPKINS, J. A double-blind evaluation of the activity of an anti-cellulite product containing retinal, caffeine, and ruscogenine by a combination of several non-invasive methods. **J. Cosmet. Sci.**, Paris, v.52, n.4, p.199-211, 2001.
12. BETH, A. Combatendo a celulite. [Online]. Disponível em: <http://www.universodamulher.com.br/default.asp?page=materia&VCodMateria=124>. Acesso em 15 abr. 2003.
13. BEZERRA, S.V., REBELLO, T. **Guia de produtos cosméticos**. São Paulo: Senac, 1996. p.37, 61-63.
14. BONINA, F.P., CARELLI, V., DI COLO, G., MONTENEGRO, L., NANNIPIERE, E. Vehicle effects on in vitro skin permeation of and stratum corneum affinity for model drugs caffeine and testosterone. **Int. J. Pharm.**, Pisa, v.100, n.1, p.41-7, 1993.
15. BRANDÃO, L.A. **Index ABC**: ingredientes para a indústria de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Version 1.0 for Windows. 2.ed. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, 2000. 1 CD-ROM.
16. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Cosméticos. Câmara técnica. Parecer técnico nº 01/01 de 29/06/01.

Utilização de metilxantinas em preparações cosméticas. Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 31 jan.2002.

17. BRITISH PHARMACOPOEIA, London: Stationery office, v.1, 1999, p.226-7.
18. BUSCAGLIA, D.A., CONTE, E.T., Mc CAIN, W., FRIEDMAN, S. The treatment of cellulite and herbal extract based cream: an ultrasonographic analysis. **Cosmet. Dermatol.**, New York, v.9, n.11, p.30-6, 1996.
19. CADWALLADER, D.E. Stability testing. Its role in pre-formulation and formulation of cosmetic products. **Cosmet. Toiletries.**, Oak Park, v.104, n.11, p.87-102, 1989.
20. CAFEISILANE®C: Ficha de informação de segurança, Mônaco, s/d. 3p. [Catálogo].
21. CALIARI, M.V. **Princípios de morfometria digital. KS 300 para iniciantes.** Belo Horizonte: Editora Universidade Federal de Minas Gerais, 1997. 149p.
22. CARBOPOL®: resinas hidrosolúveis. Cleveland: B.F. Goodrich, 1981. 19p. [Catálogo].
23. CELULITE. Um desafio para a ciência e a estética.[Online]. Disponível em:
<http://boasaude.uol.com.br/lib/ShowDoc.cfm?LibDocID=3988&ReturnCatID=666>. Acesso em 15 abr. 2003a.
24. CELULITE. Tratamentos. [Online]. Disponível em:
<http://www.dermat.com.br/celulite.htm>. Acesso em 15 abr. 2003b.

25. CHAMBIN-REMOUSSENARD, O., TREFFEL, P., BECHTEL, Y., AGACHE, P. Surface recovery and stripping methods to quantify percutaneous absorption of caffeine in humans. **Amer. Pharm. Assoc.**, New York, v.82, n.11, p.1099-1101, 1993.
26. CHARASSE, N. **Permeation cutanee de la caffeine et evaluation de son activite lipolytique**. França, 1993.122p. [Tese de Doutorado – Universite Claude Bernard-Lyon I – Faculte de Pharmacie – Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques].
27. CÉSARINI, J.P. Estrutura e funções do sistema pigmentar. In: PRUNIÉRAS, M. **Manual de cosmetologia dermatológica**. São Paulo: Organização Andrei, 1994. cap.3, p.109-151.
28. CIPORKIN, H., PASCHOAL, L. H. **Atualização terapêutica e fisiopatogênica da lipodistrofia ginóide**. São Paulo: Santos, 1992. p.1, 322, 357.
29. CLARO-JUNIOR, N.F. Avaliação da estabilidade de produtos cosméticos: Testes físico-químicos aplicados a produtos cosméticos em estudo de estabilidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA 15, São Paulo, 2001. **Anais**. São Paulo, Associação Brasileira de Cosmetologia. p.195-204.
30. CLÉMENT, P., LAUGEL, C., MARTY, J. In vitro release of caffeine from concentrated w/o emulsions: effect of formulation parameters. **Int. J. Pharm.**, London, v.207, n. 2, p.7-20, 2000.
31. CORRÊA, M.A. **Curso de cosmetologia** – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Fármacos e Medicamentos – Campus

- de Araraquara. São Paulo: Associação Farmacêutica de Araraquara, 2002. p.29-33.
- 32.CURRI, S.B. Cellulite and fatty tissue microcirculation. **Cosmet. Toiletries**, Oak Park, v.108, n.4, p.51-8, 1993.
- 33.CURRI, S.B., BOMBARDELLI, E. Local lipodystrophy and Districtual microcirculation. **Cosmet. Toiletries**, Oak Park, v.109,, n.9, p. 51-65,1994.
- 34.D' LEON, L.F.P. Estudo de estabilidade de produtos cosméticos. **Cosmet. Toiletries** (ed. Port.), São Paulo, v.13, n.4, p.54-64, 2001.
- 35.D' LEON, L.F.P. Estudios de estabilidad de productos cosméticos. **GCI Latinoamérica**, Bogota, v.1, n.2, p.24-30, 2002.
- 36.DAVIS, H.M. Analysis of creams and lotions. In: SEZEL, A.J. (Ed.) **Newbuerger' s Manual of cosmetic analysis**. Washington D.C., Association of Official Analytical Chemists, 1977, p.32.
- 37.DEZÉM, F.C., ARANTES, E.C. Ação da hialuronidase na absorção cutânea de cafeína. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DE UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, Ribeirão Preto, 1999. **Anais**. Ribeirão Preto, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, p.3.
- 38.DI SALVO, R.M. Controlling the appearance of cellulite. **Cosmet. Toiletries**, Carol Stream, v.110, n.7, p.50-9, 1995.
- 39.DIAS, M., FARINHA, A., FAUSTINO, E., HADGRAFT, J., PAIS, J., TOSCANO,C. Topical delivery of caffeine from some commercial formulations. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.182, n.1, p.41-7, 1999.

40. DICKINSON, B.I., GORA-HARPER, M.L. Aminophylline for cellulite removal. **Ann. Pharm.**, Lexington, KY, v.30, n.3, p.292-293, 1996.
41. DRAELOS, Z.D. Topical cellulite treatments. **Cosm. Derm.**, v.9, n.10, p.16-20, 1996.
42. DOW CORNING. Ciências sensualidade – Soluções para benefícios múltiplos – Silicone. Formulações cosméticas. Órgão de divulgação da Dow Corning, 2003. versão 01, 40p. [Catálogo].
43. EXSYMOL: **Cosmetique et adipocytes**, s/d., 131p. [Catálogo].
44. EXSYMOL. Los silanoles. Disponível em: <http://www.exsymol.com/es/silanol.php>. Acesso em 15 abr. 2003.
45. FELDMANN, R.J., MAIBACH, H.I. Absorption of some organic compounds through the skin in man. **J. Invest. Dermatol.** California, v.54, n. 5, p.399-404, 1970.
46. FERRARI, M. Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleos de andiroba e copaíba. Ribeirão Preto, 1998. 143p. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP].
47. FONSECA, A., SOUZA, E.M. **Dermatologia clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984, p. 2-9.
48. FOX, C. Advances in cosmetic science and technology II. Topical bioactive materials. (Review). **Cosmet. Toiletries**, Oak Park, v.109, n.9, p.83-115, 1994.

49. GARCIA, N., DOUCET, O., BAYER, M., ZASTROW, L., MARTY, J.P. Use of pharmacokinetic and non-invasive methods to characterize the barrier function of excised normal human skin and reconstituted epidermis. In: **Anais do XXI IFSCC (International Federation Societies of Cosmetic Chemists)**, Berlin, 2000.
50. GARTNER, L.P., HIATT, J.L. **Tratado de histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.1-8, 91-95, 253-266.
51. GASBARRO, V., VETTORELLO, G.F. Treating cellulite. **Cosmet. Toiletries**, Oak Park, v.107, n.12, p.64-9, 1992.
52. GEL. Tipos de géis. Disponível em: www.farmaciaeseguranca.hpg.ig.com.br/saude/10/index_int_6.html. Acesso em: 30 jan. 2003.
53. GERSMAN, A., TARIKI, M.V.R., PINTO, R. Celulite e gordura localizadas: tratamento com nova formulação de alta eficácia. **Rev. Cosmiatria Med. Estética**, São Paulo, v.4, n.3, 1996.
54. GLICK, A B., YUSPA, S. H. Mecanismos de regulação e função estrutural da pele. **Cosm. Toiletries**, (ed. Português), v.9, n.4, p.46-53, 1997.
55. GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill Interamericanas, 1996. p.490-495.
56. GUENTHER, W.B. Apreciação de dados. In: _____. **Química quantitativa: medições e equilíbrio**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1972. cap.2, p.13-27.

57. HERNANDEZ, M., MERCIER-FRESNEL, M-M. **Manual de Cosmetologia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1999. p.24-30, 37-40, 190-91.
58. HILEL, A. S. Mesoterapia, celulite e varizes: Uso do buflomedil. **Rev. Cosmiatria Med. Estética**, São Paulo, v.1, n.2, 1993
59. HYNIE, S., KRISHNA, G., BRODIE, B.B. Theophylline as a tool in studies of the role of cyclic adenosine 3', 5'- monophosphate in hormone-induced lipolysis. **J. Pharm. Exp. Ther.** Maryland, v.153, n.1, p.90-96, 1966.
60. JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. A histologia e seus métodos de estudo. In: _____. **Histologia básica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999a cap.1, p.1-18.
61. JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. Pele e anexos. In: _____. **Histologia básica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999b cap.18, p.303-314.
62. JUNQUEIRA, L.C.U., JUNQUEIRA, L.M.M.S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos, 1983, 123p.
63. KARLSON, P.; GEROK, W.; GRSS, W. **Patobioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982, p.126-127, 236-237.
64. KHURY, E. Estudo de estabilidade de produtos cosméticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA 15, São Paulo, 2001. **Anais**. São Paulo, Associação Brasileira de Cosmetologia, p.191-192.
65. KUREBAYASHI, A. K. Celulite. **Cosmet. perfumes**, São Paulo, n. 23, p.15-6, 2003.

66. LE COZ, J. A propos de l' intoxication à la caféine par voie sous-cutanée. **Presse Med.**, França, v.29, n.1, p.33, 2000.
67. MACEDO, O.R. **A Ciência da beleza**. São Paulo: Marco Zero, 1989. p.113-136.
68. MACEDO, O.R., VERRI, M.C. Eletrolipólise: uma alternativa no tratamento da lipodistrofia ginóide. **Rev. Cosmiatria Med. Estética**, São Paulo, v.1, n.2, p.19-25, 1993.
69. MAGALHÃES, J. **Cosmetologia**. Rio de Janeiro: Rubio, 2000. p.33-41, 187-232.
70. MAIA, A.M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações cosméticas contendo ácido ascórbico. São Paulo, 2002. 117p. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP].
71. MAMBRO, V.M. Desenvolvimento de formulações com superóxido dismutase: avaliação da estabilidade física das formulações e da atividade enzimática. Ribeirão Preto.2001. 138p. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP].
72. MARTINDALE: **The Extra Pharmacopoeia**. 31.ed. London: Pharmaceutical Press, 1996, p.1652-1655.
73. MARZZOCO, A., TORRES, B.B. **Bioquímica básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2.ed., 1999, p.288-289.

74. MORFOMETRIA. **Princípios básicos e aplicações da morfometria.** Técnicas de morfometria. KS 300. Disponível em: <http://www.mednet.com.br/instpub/patge/morf001.htm>. Acesso em 01 nov. 2002.
75. MORVAN, P.Y., MIGUEL, M.S. Lipólise- Lipogênese: regulação da produção de gordura no tecido adiposo cutâneo humano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA 16, São Paulo, 2002. São Paulo, Associação Brasileira de Cosmetologia. 1p., **CD-ROM**.
76. NAKAMURA, C.T., UCHIDA, P.T., MARCONDES, C., OHARA, M.T., VELASCO, M.V.R. Estudo de estabilidade de formulações cosméticas contendo cafeína e derivados no combate da lipodistrofia ginóide. **RBCF-Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, v.38, n.1, p.96, 2002.
77. NATURALE. Tratamento da celulite. [Online]. Disponível em: <http://www.widesoft.com.br/users/naturale/tratamen.htm>. Acesso em 26/10/2002.
78. NETO, G.K. Celulite: associação terapêutica, mesoterapia e lipoescultura. **Rev. Cosmiatria Med. Estética**, São Paulo, v.1, n.2, p.26-9, 1993.
79. PAULINO, A.S., FURIANETO, L.G.B., ROSSA, R., PAULINO, N. Desenvolvimento e avaliação farmacológica de produtos cosméticos contendo bioativos para o tratamento da lipodistrofia ginóide. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA 16, São Paulo, 2002. São Paulo, Associação Brasileira de Cosmetologia. p.1-18, **CD-ROM**.

80. PEYREFITTE, G., CHIVOT, M., MARTINI, M.-C. **Estética cosmética – Cosmetologia – Biologia geral – Biologia da pele**. São Paulo: Andrei, 1998, p.325-57.
81. PH GEL. Tipos de géis. Disponível em: www.phgel.hpg.ig.com.br/tipos_de_gel_natrosol.html. Acesso em 16 jun. 2003.
82. PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. **Técnica Farmacêutica e Farmácia Galênica**. 4.ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992a, v.1, p.962, 1061.
83. PRISTA, L.V.N, BAHIA, M.F.G., VILAR, E. **Dermofarmácia e Cosmética**. Porto: Associação Nacional das Farmácias, 1992b. v.1, p.13-138.
84. RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M. **Farmacologia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 284, 390, 506, 507, 511, 512, 515, 516.
85. RANGEL, V.L.B.I. Desenvolvimento, estabilidade e liberação in vitro de preparações lipolíticas, 1998. 138p. [Tese de doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas -USP].
86. RECIO, AL., RITTES, P., MACEDO, OR. Avaliação da ação da mesoterapia no tratamento das lipodistrofias localizadas. **Rev. Cosmiatria Med. Estética.**, São Paulo, v.1, n.1, p.18-23, 1993.
87. RIBEIRO, A.M., KHURY, E., GOTTARDI, D. Validação de testes de estabilidade par produtos cosméticos. In: CONGRESSO NACIONAL DE

- COSMETOLOGIA, 10, São Paulo, 1996. **Anais.** São Paulo, Associação Brasileira de Cosmetologia, 1996. p.349-375.
88. RIEGER, M.M. Teste de estabilidade para macroemulsões. **Cosmet. Toiletries**, (ed. Port.), São Paulo, v.8, n.5, p.47-53, 1996.
89. RITTES, P. Nova técnica terapêutica no tratamento da lipodistrofia ginóide. **Rev. Cosmiatria Med. Estética**, São Paulo, v.4, n.3, p.18-26, 1996.
90. ROPKE, C.D., BARROS, S., SAWADA, T.C.H., BERNUSO, L.C., SILVA, V., BARROS, S.B.M. Avaliação da atividade antioxidante de *Pothmorphe umbellata* L. Miq na pele. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA, 14, São Paulo, 2000. **Anais.** São Paulo, Associação Brasileira de Cosmetologia. p.483-500.
91. ROSENBAUM, M., PRIETO, V., HELLMER, J., BOSCHMANN, M., KRUEGER, J., LEIBEL, R. L., SHIP, A. G. An exploratory investigation of the morphology and biochemistry of cellulite. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.101, n.7, p.1934-9, 1998.
92. ROSSI, M. H., REITH, E.J., ROMRELL, L. J. **Histologia - Texto e Atlas**, 2.ed. São Paulo: Panamericana, 1993, p.347-64.
93. ROTHMANN, C., AUSSÉDAT, M., NOIZET, M., WEBER, M. Intoxication á la caffeine par voie sous-cutanée. **Presse Med.**, França, v. 28, n.36, p.198, 1999.
94. SAINIO, E.L., RANTANEN, T., KANERVA, L. Ingredients and safety of cellulite creams. **Eur. J. Dermatol.**, Finlândia, v.10, n.8, p.596-603, 2000.

95. SAMPAIO, S.A.P., CASTRO, R.M., RIVITTI, E.A. Anatomia e fisiologia da pele. In: _____. **Dermatologia básica**. 3.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1985. cap.1, p.1-24.
96. SANCHEZ, C.F. Estudos anatomo-patológico e termográfico da celulite. **Rev. Cosmiatria Med. Estética**, São Paulo, v.2, n.1, p.3-13, 1994.
97. SMITH, W.P. Cellulite treatments: snake oils or skin science. **Cosmet. Toiletries**, Carol Stream, v.110, n.7, p.61-70, 1995.
98. SOUTHWELL, D., BARRY, B.W. Penetration enhancement in human skin; effect of 2-pyrrolidone, dimethylformamide and increased hydration on finite dose permeation of aspirin and caffeine. **Int. J. Pharm.**, Bradford, v.22, n.2, p.291-298, 1984.
99. STADLER, R.H., RICHOSZ, J., TURESKY, R.J., WELTI, D.H., FAY, L.B. Oxidation of caffeine and related methylxanthines in ascorbate and polyphenol-driven fenton-type oxidations. **Free Rad. Res.**, Amsterdam, v.24, n.3, p.225-240, 1996.
100. THE JAPANESE PHARMACOPOEIA. 13.ed. Tokyo: Yakuji Nippo, 1996. v.1, p. 253-4.
101. THE MERCK INDEX: 12.ed. New Jersey: Withehouse Station, 1996. p. 268.
102. THORMAHLEN, S. Vitamins in cosmetic formulations. A new generation of products. In: INTERNATIONAL FEDERATION SOCIETIES OF COSMETIC CHEMISTS, 21, Berlin, 2000. **Anais**. p.459-67.

103. TONG, L.M., GERICKE, K.R. Topical aminophylline: is it safe and effective in causing regional fat loss? **J. Pharm. Technol.**, San Francisco, v.13, n.2, p.80-3, 1997.
104. TOUITOU, E., JUNGINGER, H.E., WEINER, N.D., NAGAI, T., MEZEI, M. Liposomes as carriers for topical and transdermal delivery. **J. Pharm. Sci.**, Jerusalem, v.83, n.9, p.1189-1203, 1994a.
105. TOUITOU, E., LEVI-SCHAFFER, F., DAYAN, N., ALHAIQUE, F., RICCIERI, F. Modulation of caffeine skin delivery by carrier design: liposomes versus permeation enhancers. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 103, n.1, p.131-136, 1994b.
106. TRAVERSA, E. Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo papaína e avaliação da sua eficácia depilatória sobre o folículo piloso. São Paulo, 2003. 160p. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP].
107. UNITED States Pharmacopoeia. 25.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2002, p.274-5.
108. VELASCO-DE-PAOLA, M.V.R. Fatores que influenciam na estabilidade dos produtos cosméticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA, 25, São Paulo, 2001. **Anais**. São Paulo, Associação Brasileira de Cosmetologia, p.205-206.
109. VIDA KOVIC, N., PIMORAC, M., VULETA, G. Stability evaluation of polyacrylic anticellulite gel. **SOFW- Journal**, Belgrade, v.126, n.9, p.28-32, 2000.

110. VIGLIOGLIA, P.A .RUBIN, J. **Cosmiatria II**. Buenos Aires: Americana de Publicaciones, 1989. p.303-13.
111. WILKINSON, J.B., MOORE, R.J. **Cosmetologia de Harry**, 2.ed. Madrid: Díaz de Santos, 1990, p.3-28.
112. WILLY, B., PAULETTE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Livros técnicos e científicos, 1976, v. 2 p. 353-4.
113. WITTERN, P., ANSMANN, A.,HÜTTINGER, R., BILLEK, D., CHARLET, E., HOENEN, L., KUCZERA, K., MOTITSCHKE, L., QUACK, J., SEIB, K., UMBACH, I., WOLFF, G. Stability testing of cosmetic emulsions. **Rev. Cosmiatria Med. Estética.**, São Paulo, v.100, p.33-39, 1985.
114. YOCHIV, A . A influência da administração oral de diuréticos na análise quantitativa de cafeína urinária usando o controle da dopagem no esporte. São Paulo, 1995, 100p. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP].
115. YOUNG, B., HEATH, J.W. **Wheater histologia functional texto e atlas em cores**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.2-32, 73-75, 157-171.
116. ZANINI, A.C., OGA, S. **Farmacologia aplicada**. 5.ed. São Paulo: Atheneu, 1994, p. 147, 205, 206.