

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Estabilidade e eficácia de formulações cosméticas contendo extrato  
de *Myrtus communis* e um complexo vitamínico hidratante**

**FLÁVIO BUENO DE CAMARGO JUNIOR**

**Ribeirão Preto**

**2010**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Estabilidade e eficácia de formulações cosméticas contendo extrato de *Myrtus communis* e um complexo vitamínico hidratante**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de **Doutor em Ciências**

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

**Orientado(a):** Flávio Bueno de Camargo Junior

**Orientador(a):** Prof.(a) Dr.(a) Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos

**Ribeirão Preto**

**2010**

## FICHA CATALOGRÁFICA

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

Camargo Junior, Flávio Bueno

Estabilidade e eficácia de formulações cosméticas contendo extrato de *Myrtus communis* e um complexo vitamínico hidratante. Ribeirão Preto, 2010.

206 p.: il.; 30cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP - Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientadora: Maia Campos, Patrícia Maria Berardo Gonçalves

1. cosméticos 2. *Myrtus communis* 3. vitaminas 4. eficácia clínica 5. reologia  
6. atividade antioxidante.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Flávio Bueno de Camargo Junior**

“Estabilidade e eficácia de formulações cosméticas contendo extrato de *Myrtus communis* e um complexo vitamínico hidratante”

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em CIÊNCIAS

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador(a): Prof.(a) Dr.(a) Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Trabalho realizado no Laboratório de  
Tecnologia de Cosméticos, da Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto,  
da Universidade de São Paulo – USP

## *DEDICATÓRIA*

*A Deus por permitir com que eu concluísse mais uma importante etapa em minha vida e por sempre colocar ao meu lado pessoas maravilhosas, que de alguma forma, ajudaram a alcançar meus objetivos.*

*Aos meus pais, Flávio e Roseli, por estarem sempre presentes em todos os momentos da minha vida, me apoiando na realização de todos os meus sonhos e servindo de exemplo de vida, amor, dedicação e generosidade..*

*Ao meu irmão Thiago, por ser um grande amigo, que sempre me apóia e com muita alegria me incentiva a crescer e realizar os meus sonhos.*

*Ao meu tio Rudney, que sempre fez o possível para me incentivar e ajudar a realizar meus sonhos, por mais que eu me esforce, jamais conseguirei retribuir tudo o que você fez por mim.*

*A minha namorada Eliana, minha grande companheira nessa jornada, obrigado pelo amor, carinho e paciência com que sempre me apoiou em todos os momentos.*

*Todos vocês foram de fundamental importância para que eu conseguisse chegar até aqui. Amo vocês.*

*Agradecimento especial*

*À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Patrícia M. B. G. Maia Campos, pelo carinho, apoio e dedicação com que sempre me orientou. Sempre serei grato pela amizade, confiança e por todas as oportunidades que me proporcionou durante esses anos de agradável convivência.*

## **AGRADECIMENTOS**

À **Profa. Dra. Lorena Rigo Gaspar Cordeiro**, pela amizade, incentivo e apoio dado ao longo desses anos.

À **Mariana Barbieri Alvarez Demets**, agradeço por sua grande amizade e carinho com que sempre colaborou na realização dos estudos.

Aos amigos do Laboratório de Tecnologia de Cosméticos (**Ananda, Carolina, Daiane, Glasiela Karina, Kassandra, Luciana, Mariana, Mirela, Raphael, Sabrina, Susi, Tais, Victor e Wanessa**), pela amizade, colaboração, convivência e por tudo que me ensinaram durante estes anos de agradável convivência.

Agradeço ao amigo **Nelson dos Reis Aguiar Junior**. (*in memoriam*), pela amizade, apoio e grande colaboração prestada durante o projeto.

A todas as **voluntárias** que participaram desse estudo, pela sua fundamental colaboração que possibilitou a realização desse trabalho.

À **Maria Del Carmen Velazquez Pereda, Daniel Kiss e Jéssica Sanches Silveira**, pela confiança em mim depositada e o carinho com que me apoiaram para a conclusão desse trabalho.

À **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto** pela oportunidade da realização deste doutorado.

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

Devo também agradecimentos ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** e à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela concessão da bolsa de doutorado e apoio financeiro para realização desta pesquisa.



A todos os funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Agradeço aos meus parentes, amigos e todos que de alguma forma contribuíram para que este trabalho pudesse ser realizado. A todos o meu eterno agradecimento.

***RESUMO***

---

Camargo Junior, F.B. **Estabilidade e eficácia de formulações cosméticas contendo extrato de *Myrtus communis* e um complexo vitamínico hidratante**. 2010. 206 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Considerando que a tendência atual em termos de formulações cosméticas é a veiculação de diferentes substâncias ativas num mesmo produto, visando o sinergismo de efeito, o objetivo desse trabalho foi a avaliação da estabilidade, da segurança e da eficácia clínica de formulações cosméticas, contendo extrato de *Myrtus communis* e um complexo vitamínico hidratante à base de D-pantenol e derivados de vitaminas C e E, bem como a avaliação da atividade antioxidante *in vitro* do extrato objeto de estudo. Para tal, na primeira etapa do estudo foram elaboradas 4 formulações de géis creme, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol), as quais foram submetidas a testes preliminares de estabilidade e à avaliação do comportamento reológico, da compatibilidade cutânea e da eficácia clínica, por métodos subjetivos (avaliação sensorial) e quantitativos por técnicas de biofísica e análise de imagem da pele. No estudo clínico as formulações foram aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias, sendo realizadas medidas do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidérmica (TEWL), do micro-relevo cutâneo e da anisotropia da pele, antes (basal) e após 3 horas (efeito imediato) 15 e 30 dias de aplicação das formulações (efeito em longo prazo). Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste paramétrico análise de variância. A seguir, a formulação que apresentou melhores resultados na avaliação sensorial e estudo de eficácia, foi acrescida de Tetraisopalmitato de ascorbila (F5) ou Vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato (F6) ou associação destes (F7). As referidas formulações foram submetidas aos testes de estabilidade e eficácia clínica. De acordo com os resultados obtidos, as formulações foram consideradas estáveis e seguras, sendo que a formulação de nº 4 foi a que apresentou o melhor sensorial, de acordo com as voluntárias sendo, portanto, selecionada para ser acrescida dos derivados de vitaminas objeto de estudo. Na avaliação dos efeitos imediatos, as formulações estudadas aumentaram significativamente o conteúdo aquoso do estrato córneo nas regiões dos antebraços e da face, quando comparadas com os valores basais. Em relação à TEWL, foi possível observar que as formulações nºs 2, 3 e 4 provocaram melhora na função barreira da pele dos antebraços, enquanto que na face apenas as formulações nºs 3 e 4 provocaram melhora neste parâmetro. Na avaliação em longo prazo, todas as formulações estudadas, proporcionaram um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo após 15 e 30 dias de aplicação, enquanto que somente as formulações que continham as substâncias ativas objeto de estudo, ou seja, as nºs 2, 3 e 4, melhoraram a função barreira da pele. No estudo de eficácia clínica onde as formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e os derivados de vitamina C e E) foram avaliadas comparativamente, foi possível observar um aumento significativo nos valores do conteúdo aquoso do estrato córneo, em relação aos valores basais e a região controle (região que não recebeu aplicação de nenhuma formulação), após 15 dias de aplicação. Em relação à TEWL, apenas a formulação F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) provocou melhora na função barreira. De acordo com os resultados obtidos, as formulações desenvolvidas neste estudo apresentaram efeito hidratante pronunciado e, as que continham o extrato *Myrtus communis* e D-pantenol, protegeram a função barreira da pele. Além disso, o extrato de *Myrtus communis* demonstrou atividade antioxidante pronunciada, efeito considerado muito importante para o emprego deste extrato em cosméticos com finalidades antienvelhecimentos. Finalizando, este estudo mostrou a importância do desenvolvimento de formulações cosméticas estáveis, de sensorial adequado e com eficácia comprovada, contendo o extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e o complexo vitamínico objeto de estudo, para a hidratação, proteção e melhora das condições gerais da pele.

**Palavras-chave:** 1. cosméticos 2. *Myrtus communis* 3. vitaminas 4. eficácia clínica 5. reologia 6. atividade antioxidante

***ABSTRACT***

---

Camargo Junior, F.B. **Stability and efficacy of cosmetic formulations containing *Myrtus communis* extract and a hydrating vitamin complex**. 2010. 206 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Considering that the current trend in terms of cosmetic formulations is to vehicle different active ingredients in one single product, aiming the effect of synergism, the objective of this study was to evaluate the stability, safety and clinical efficacy of cosmetic formulations containing extract of *Myrtus communis* and a moisturizing vitamin complex based on D-panthenol and derivatives of vitamins C and E, as well as to evaluate the extract *in vitro* antioxidant activity. Thus, for the first study stage, four gel cream formulations were developed, F1 (vehicle), F2 (vehicle supplemented with *Myrtus communis* hydrolyzate extract), F3 (vehicle supplemented with D-panthenol) and F4 (vehicle supplemented with *Myrtus communis* hydrolyzate extract and D-panthenol), which were submitted to preliminary stability tests, to rheological behavior assessment, to skin compatibility test and to clinical efficacy assessment, by subjective methods (sensorial evaluation) and quantitative methods, by biophysics techniques and skin image analysis. In the clinical study, the formulations were applied on the volunteers' face and forearms, with measurements of the stratum corneum water content, transepidermal water loss (TEWL), skin micro-relief and skin anisotropy before (baseline) and after 3 hours (immediate effects), 15 and 30 days of the formulations application (long-term effects). Data were statistically analyzed by parametric test analysis of variance. Afterwards, the formulation that showed best performance in sensory evaluation and clinical efficacy study was supplemented with ascorbyl tetraisopalmitate (F5) or Vitamin E - D-Alpha-Tocopherol Acetate (F6) or a combination of both derivatives of vitamins, C and E (F7). According to the obtained results, all the formulations were considered safe and stable, and formulation 4 was the one with the best sensorial performance, according to the volunteer's perception, and, therefore, it was selected to be supplemented with the vitamin derivatives under study. The immediate effects evaluation demonstrated that all the other formulations significantly increased stratum corneum water content in the face and forearms skin, when compared to baseline values. In relation to TEWL, it was observed that the formulations 2, 3 and 4 provoked an improvement in forearm skin barrier function, while only formulations 3 and 4 provoked an improvement on this parameter on the face. In the long-term assessment, all formulations studied promoted a significant increase in stratum corneum water content after 15 and 30 days of the formulations application, while only formulations containing the studied active ingredients, i.e., formulations 2, 3, and 4 improved skin barrier function. In the clinical efficacy study when the formulations F4 (vehicle supplemented with *Myrtus communis* hydrolyzate extract and D-panthenol) and F7 (vehicle supplemented with *Myrtus communis* hydrolyzate extract, D-panthenol and derivatives of vitamin C and E) were comparatively assessed, it was possible to observe a significantly increase in stratum corneum water content, when compared to baseline values and to control areas (region which received no formulation), after 15 days of formulations application. Regarding TEWL, only formulation F4 (vehicle supplemented with *Myrtus communis* hydrolyzate extract and D-panthenol) provoked an improvement in skin barrier function. According to the obtained results, the formulations developed in this study demonstrated a pronounced moisturizing effect, and those containing *Myrtus communis* extract and D-panthenol, protected the skin barrier function. Moreover, the extract of *Myrtus communis* demonstrated a pronounced antioxidant activity, an effect considered very important for this extract use in cosmetics aiming anti-aging purposes. Finally, this study demonstrated the relevance of developing stable cosmetic formulations, with adequate sensory characteristics and proven effectiveness, supplemented with *Myrtus communis* hydrolyzed extract and with the vitamin complex under study, for skin hydration, protection and improvement of general skin conditions.

**Keywords:** 1. Cosmetics, 2. *Myrtus communis*, 3. Vitamins, 4. clinical efficacy, 5. Rheology, 6. antioxidant activity

## ***LISTA DE FIGURAS***

---

Figura 1.	Foto do Arbusto e da flor de <i>Myrtus communis</i> .....	8
Figura 2.	Estruturas moleculares do pantenol e do ácido pantotênico.....	10
Figura 3.	Estrutura molecular do Alta tocoferol .....	12
Figura 4.	Estruturas moleculares do ácido ascórbico, do VC-PMG fosfato de Ascorbil Magnésio e do VC-IP tetraisopalmitato de ascotbila .....	13
Figura 5.	Aplicação do patch no dorso dos voluntários.....	35
Figura 6.	Imagem digitalizada da pele obtida por uma câmera de vídeo Visiovcn VC 98.	41
Figura 7.	Cálculo do parâmetro $Se_{sm}$ .....	42
Figura 8.	Cálculo do parâmetro $R_t$ .....	42
Figura 9.	Curva de deformação da pele obtida pelo equipamento Cutometer SEM 575.....	44
Figura 10.	Avaliação do potencial antioxidante do extrato hidrolisado de <i>Myrtus comunnis</i> pelo método de quimioluminescência dependente de luminol H2O2-HRP .....	47
Figura 11.	Concentração do extrato de Murta que inibe 50% da formação de radicais livres (IC50).....	47
Figura 12.	Formulação de nº 1 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada no ambiente .....	51
Figura 13.	Formulação de nº 1 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 37°C .....	51
Figura 14.	Formulação de nº 1 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 45°C .....	51
Figura 15.	Formulação de nº 2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada no ambiente .....	51
Figura 16.	Formulação de nº 2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 37°C .....	51
Figura 17.	Formulação de nº 2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 45°C .....	51
Figura 18.	Formulação de nº 3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada no ambiente .....	52
Figura 19.	Formulação de nº 3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 37°C .....	52

Figura 20. Formulação de nº 3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 45°C .....	52
Figura 21. Formulação de nº 4 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada no ambiente .....	52
Figura 22. Formulação de nº 4 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 37°C .....	52
Figura 23. Formulação de nº 4 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 45°C .....	52
Figura 24. Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.....	53
Figura 25. Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.....	53
Figura 26. Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.....	54
Figura 27. Índice de Consistência das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias .....	55
Figura 28. Índice de Consistência das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias .....	55
Figura 29. Índice de Consistência das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias .....	55
Figura 30. Índice de Fluxo das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.....	57
Figura 31. Índice de Fluxo das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias .....	57
Figura 32. Índice de Fluxo das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias .....	57
Figura 33. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 , 7 estudadas no tempo inicial, armazenadas no ambiente .....	58
Figura 34. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 7 dias, armazenadas no ambiente .....	59
Figura 35. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 14 dias, armazenadas no ambiente .....	59
Figura 36. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 21 dias, armazenadas no ambiente .....	59



Figura 37. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 28 dias, armazenadas no ambiente .....	59
Figura 38. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 60 dias, armazenadas no ambiente .....	59
Figura 39. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 90 dias, armazenadas no ambiente .....	59
Figura 40. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 7 dias, armazenadas a 37°C .....	60
Figura 41. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 14 dias, armazenadas a 37°C .....	60
Figura 42. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 21 dias, armazenadas a 37°C .....	60
Figura 43. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 28 dias, armazenadas a 37°C .....	60
Figura 44. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 60 dias, armazenadas a 37°C .....	60
Figura 45. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 90 dias, armazenadas a 37°C .....	60
Figura 46. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 7 dias, armazenadas a 45°C .....	61
Figura 47. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 14 dias, armazenadas a 45°C .....	61
Figura 48. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 21 dias, armazenadas a 45°C .....	61
Figura 49. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 28 dias, armazenadas a 45°C .....	61
Figura 50. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 60 dias, armazenadas a 45°C .....	61
Figura 51. Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 90 dias, armazenadas a 45°C .....	61
Figura 52. Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.....	63
Figura 53. Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.....	63

- Figura 54. Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias..... 63
- Figura 55. Índice de Consistência das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias ..... 65
- Figura 56. Índice de Consistência das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias ..... 65
- Figura 57. Índice de Consistência das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias ..... 65
- Figura 58. Índice de Fluxo das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias..... 67
- Figura 59. Índice de Fluxo das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias ..... 67
- Figura 60. Índice de Fluxo das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias ..... 67
- Figura 61. Avaliação sensorial dos parâmetros; Sensação ao toque e pegajosidade (A) e Espalhabilidade (B) das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 72
- Figura 62. Avaliação sensorial dos parâmetros; Sensação imediata na pele (A) e Sensação na pele após 5 minutos (B) das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) ..... 73
- Figura 63. Avaliação sensorial dos parâmetros; Hidratação (A) e Textura da pele (B) das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 73
- Figura 64. Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol..... 77
- Figura 65. Perda de água transepidérmica da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 79

- Figura 66.  $Se_r$  da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 81
- Figura 67.  $Se_w$  (número de rugas) da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 82
- Figura 68.  $Se_{sm}$  (textura da pele) da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 83
- Figura 69.  $R_t$  da região dos antebraços das voluntárias (A) e da face (B), antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 85
- Figura 70. Propriedades mecânicas da pele (RRTMmax/RRTMmin) da região dos antebraços (A) e da face (B), antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 86
- Figura 71. Índice de eritema da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) ..... 88
- Figura 72. Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 92
- Figura 73. Perda de água transepidérmica da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 94
- Figura 74.  $Se_r$  da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 96

- Figura 75.  $Se_w$  (número de rugas) da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 97
- Figura 76.  $Se_{sm}$  (textura da pele) da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 99
- Figura 77.  $R_t$  da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 100
- Figura 78. Propriedades mecânicas da pele (RRTMmax/RRTMmin) na região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 101
- Figura 79. Índice de eritema da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol)..... 103
- Figura 80. Conteúdo aquoso do estrato córneo da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) ..... 106
- Figura 81. Perda de água transepidérmica (TEWL) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) ..... 107
- Figura 82.  $Ur/Ue$  (elasticidade líquida) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato)..... 109

- Figura 83.  $U_v/U_e$  (viscoelasticidade da pele) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) ..... 110
- Figura 84.  $Se_r$  (aspereza da pele) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato)..... 111
- Figura 85.  $Se_w$  (número de rugas) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato)..... 113
- Figura 86.  $Se_{sm}$  (Textura da pele) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato)..... 114
- Figura 87.  $R_t$  (rugosidade) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato)..... 115

## ***LISTA DE TABELAS***

---

Tabela 1.	Tabela 1. Concentração do extrato de murta.....	27
Tabela 2.	Formulações de géis-creme a base de polímero de acrilato e metilfenil polissiloxano elaboradas na primeira fase do estudo.....	28
Tabela 3.	Formulações de géis-creme a base de polímero de acrilato e metilfenil polissiloxano elaboradas na segunda fase do estudo .....	29
Tabela 4.	Valores de pH das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol) após 24 horas do preparo das mesmas .....	48
Tabela 5.	Valores de pH das formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), F5 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> , D-pantenol e Tetraisopalmitato de ascorbila), F6 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> , D-pantenol e Vitamina E) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> , D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E) após 1, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias do preparo das mesmas, armazenadas no ambiente e a 45°C .....	48
Tabela 6.	Valores de viscosidade aparente mínima (cP) das formulações estudadas (F1, F2, F3 e F4) nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C. Valores calculados no ponto máximo de cisalhamento.....	53
Tabela 7.	Valores de índice de consistência das formulações estudadas (F1, F2, F3 e F4) nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C .....	54
Tabela 8.	Valores de índice de fluxo das formulações estudadas (F1, F2, F3 e F4) nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C .....	56
Tabela 9.	Valores de viscosidade aparente mínima (cP) das formulações estudadas (F4, F5, F6 e F7) nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C. Valores calculados no ponto máximo de cisalhamento.....	62
Tabela 10.	Valores de índice de consistência das formulações estudadas (F4, F5, F6 e F7) nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C .....	64
Tabela 11.	Valores de índice de fluxo das formulações estudadas (F4, F5, F6 e F7) nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C .....	65

Tabela 12.	Compatibilidade cutânea das voluntárias após 48 horas de aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol), F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> , D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E) por meio de teste de contato oclusivo sob apósito FINN CHAMBER® .....	68
Tabela 13.	Avaliação sensorial do parâmetro; Sensação ao toque e pegajosidade (A) – Análise de Variância, n = 20 .....	70
Tabela 14.	Teste de Tukey – Avaliação sensorial do parâmetro; Sensação ao toque e pegajosidade (A) – n = 20 .....	70
Tabela 15.	Avaliação sensorial do parâmetro; Espalhabilidade (B) – Análise de Variância, n = 20 .....	70
Tabela 16.	Teste de Tukey – Avaliação sensorial do parâmetro; Espalhabilidade (B) – n = 20 .....	71
Tabela 17.	Avaliação sensorial do parâmetro; Sensação da pele imediata após a aplicação (C) – Análise de Variância, n = 20.....	71
Tabela 18.	Avaliação sensorial do parâmetro; Sensação da pele após 5 minutos da aplicação (D) – Análise de Variância, n = 20 .....	71
Tabela 19.	Avaliação sensorial do parâmetro; Hidratação (E) – Análise de Variância, n = 20 .....	71
Tabela 20.	Teste de Tukey – Avaliação sensorial do parâmetro; Hidratação (E) – n = 20.....	72
Tabela 21.	Avaliação sensorial do parâmetro; Textura da pele (F) – Análise de Variância, n = 20 .....	72
Tabela 22.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30 .....	75
Tabela 23.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 30 .....	76
Tabela 24.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região da face – Análise de Variância, n = 17 .....	76
Tabela 25.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região da face – Teste de Tukey, n = 30.....	76
Tabela 26.	Perda de água transepidérmica da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.....	78



Tabela 27	Perda de água transepidérmica da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 30 .....	78
Tabela 28.	Perda de água transepidérmica da região da face – Análise de Variância, n = 17.....	78
Tabela 29.	Perda de água transepidérmica da região da face – Teste de Tukey, n = 30.....	79
Tabela 30.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.....	80
Tabela 31.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) da região da face – Análise de Variância, n = 17 .....	80
Tabela 32.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.....	82
Tabela 33.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) da região da face – Análise de Variância, n = 17 .....	82
Tabela 34.	Se <sub>sm</sub> (textura da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.....	83
Tabela 35.	Se <sub>sm</sub> (textura da pele) da região da face – Análise de Variância, n = 17 .....	83
Tabela 36.	R <sub>t</sub> (rugosidade) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.....	84
Tabela 37.	R <sub>t</sub> (rugosidade) da região da face – Análise de Variância, n = 17 .....	84
Tabela 38.	Propriedades mecânicas da pele da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30 .....	86
Tabela 39.	Propriedades mecânicas da pele da região da face – Análise de Variância, n = 17 .....	86
Tabela 40.	Índice de eritema da região dos antebraços – Análise de Variância, n= 30.....	87
Tabela 41.	Índice de eritema da região da face – Análise de Variância, n = 17 .....	87
Tabela 42.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 18.....	90
Tabela 43.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 18 .....	90
Tabela 44.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região da face – Análise de Variância, n = 15 .....	91
Tabela 45.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 15 .....	91

Tabela 46.	Perda de água transepidérmica da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 18 .....	93
Tabela 47.	Perda de água transepidérmica da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 18 .....	93
Tabela 48.	Perda de água transepidérmica da região da face – Análise de Variância, n = 15.....	93
Tabela 49.	Perda de água transepidérmica da região da face – Teste de Tukey, n = 15.....	94
Tabela 50.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 18.....	95
Tabela 51.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) da região da face – Análise de Variância, n = 15 .....	95
Tabela 52.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 18.....	97
Tabela 53.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) da região da face – Análise de Variância, n = 15 .....	97
Tabela 54.	Se <sub>sm</sub> (textura da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.....	98
Tabela 55.	Se <sub>sm</sub> (textura da pele) da região da face – Análise de Variância, n = 17 .....	98
Tabela 56.	R <sub>t</sub> (rugosidade) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 18.....	99
Tabela 57.	R <sub>t</sub> (rugosidade) da região da face – Análise de Variância, n = 15 .....	100
Tabela 58.	Propriedades mecânicas da pele na região dos antebraços – Análise de Variância, n = 18 .....	101
Tabela 59.	Propriedades mecânicas da pele na região da face – Análise de Variância, n = 15 .....	101
Tabela 60.	Índice de eritema da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30...	102
Tabela 61.	Índice de eritema da região da face – Análise de Variância, n = 17 .....	102
Tabela 62.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10 .....	105
Tabela 63.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 10 .....	105
Tabela 64.	Perda de água transepidérmica (TEWL) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10 .....	107

Tabela 65.	Perda de água transepidérmica (TEWL) da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 10 .....	107
Tabela 66.	Ur/Ur (elasticidade líquida) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10 .....	108
Tabela 67.	R <sub>6</sub> da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.....	110
Tabela 68.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.....	111
Tabela 69.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.....	112
Tabela 70.	Se <sub>sm</sub> (Textura da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.....	114
Tabela 71.	R <sub>t</sub> (rugosidade) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.....	115
Tabela 72.	Avaliação sensorial das formulações, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol) .....	146
Tabela 73.	Avaliação sensorial das formulações, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol) .....	147
Tabela 74.	Conteúdo aquoso do estrato córneo dos antebraços das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 3 horas de uma única aplicação .....	148
Tabela 75.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da face das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 3 horas de uma única aplicação .....	149
Tabela 76.	Perda transepidérmica de água dos antebraços das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 3 horas de uma única aplicação .....	150

Tabela 77.	Perda transepidérmica de água da face das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 3 horas de uma única aplicação .....	151
Tabela 78.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) .....	152
Tabela 79.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) .....	153
Tabela 80.	Se <sub>sm</sub> (textura da pele) .....	154
Tabela 81.	R <sub>t</sub> (rugosidade) .....	155
Tabela 82.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) .....	156
Tabela 83.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) .....	157
Tabela 84.	Se <sub>sm</sub> (textura da pele) .....	157
Tabela 85.	R <sub>t</sub> (rugosidade) .....	158
Tabela 86.	Propriedades mecânicas da pele dos antebraços das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 3 horas de uma única aplicação .....	159
Tabela 87.	Propriedades mecânicas da pele da face das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 3 horas de uma única aplicação .....	160
Tabela 88.	Índice de eritema dos antebraços das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 3 horas de uma única aplicação .....	161
Tabela 89.	Índice de eritema da face das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 3 horas de uma única aplicação .....	162
Tabela 90.	Conteúdo aquoso do estrato córneo dos antebraços das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 15 e 30 dias de aplicação .....	163

Tabela 91.	Conteúdo aquoso do estrato córneo da face das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 15 e 30 dias de aplicação .....	165
Tabela 92.	Perda transepidermica de água dos antebraços das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 15 e 30 dias de aplicação .....	167
Tabela 93.	Perda transepidermica de água da face das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 15 e 30 dias de aplicação .....	169
Tabela 94.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) .....	171
Tabela 95.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) .....	173
Tabela 96.	Se <sub>sm</sub> (textura da pele) .....	175
Tabela 97.	R <sub>t</sub> (Rugosidade).....	177
Tabela 98.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) .....	179
Tabela 99.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) .....	181
Tabela 100.	Se <sub>sm</sub> (textura da pele) .....	183
Tabela 101.	R <sub>t</sub> (Rugosidade).....	185
Tabela 102.	Propriedades mecânicas da pele dos antebraços das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 15 e 30 dias de aplicação .....	187
Tabela 103.	Propriedades mecânicas da pele da face das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 15 e 30 dias de aplicação .....	189
Tabela 104.	Índice de eritma dos antebraços das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 15 e 30 dias de aplicação .....	191

Tabela 105.	Índice de eritema da face das voluntárias, que receberam a aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> ), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol), antes e após 15 e 30 dias de aplicação .....	193
Tabela 106.	Conteúdo aquoso do estrato córneo dos antebraços das voluntárias, que receberam ou não (Região Controle) a aplicação das formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> , D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato), antes e após 15 dias de aplicação .....	195
Tabela 107.	Perda de água transepidermica dos antebraços das voluntárias, que receberam ou não (Região Controle) a aplicação das formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> e D-pantenol) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i> , D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato), antes e após 15 dias de aplicação .....	196
Tabela 108.	R5 .....	197
Tabela 109.	R6 .....	198
Tabela 110.	Se <sub>r</sub> (aspereza da pele) .....	199
Tabela 111.	Se <sub>w</sub> (número de rugas) .....	200
Tabela 112.	R <sub>t</sub> (rugosidade) .....	202

## *SUMÁRIO*

<b>RESUMO.....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>iii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>v</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>xiii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
2.1. Aspectos gerais da pele.....	5
2.2. Extratos vegetais em cosméticos - <i>Myrtus communis</i> .....	7
2.3. Vitaminas em cosméticos .....	9
2.4. Estabilidade física de formulações cosméticas - Reologia.....	14
2.5. Avaliação da segurança de produtos cosméticos.....	15
2.6. Avaliação Clínica de formulações cosméticas .....	16
2.6.1. Avaliação Sensorial .....	16
2.6.2. Técnicas de biofísicas e de análise de imagem.....	17
<b>3.OBJETIVO .....</b>	<b>21</b>
<b>4.MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
4.1. Matérias-primas .....	24
4.2. Equipamentos e acessórios .....	25
4.3. Avaliação da atividade antioxidante.....	26
4.4. Desenvolvimento das formulações .....	27
4.4.1. Testes preliminares de estabilidade .....	29
4.4.1.1. Determinação do Ph .....	29
4.4.1.2. Centrifugação .....	30
4.4.1.3. Avaliação visual .....	30
4.5. Estudo da estabilidade física por determinação do comportamento reológico .....	30

<b>5. CASUÍSTICA E MÉTODOS .....</b>	<b>32</b>
5.1. Casuística.....	33
5.1.1. Aspectos éticos .....	33
5.1.2. População e Amostra/ Seleção dos voluntários.....	33
5.2. Avaliação primária da compatibilidade cutânea.....	34
5.3. Avaliação da eficácia clínica das formulações objeto de estudo.....	36
5.3.1. Avaliação Sensorial .....	36
5.3.2. Avaliação por técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele.....	37
5.3.2.1. Primeira etapa dos estudos de avaliação por técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele .....	37
5.3.2.1.1. Avaliação dos efeitos das formulações após uma única aplicação.....	38
5.3.2.1.2. Avaliação dos efeitos das formulações em longo prazo.....	38
5.3.2.2. Segunda etapa dos estudos de avaliação por técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele .....	39
5.3.2.2.1. Avaliação dos efeitos das formulações em longo prazo.....	39
5.3.2.3. Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo .....	40
5.3.2.4. Determinação da perda transepidérmica de água .....	40
5.3.2.5. Determinação do micro-relevo cutâneo.....	41
5.3.2.6. Determinação das propriedades mecânicas da pele por análise das características anisotrópicas .....	42
5.3.2.7. Determinação das propriedades mecânicas da pele por análise da viscoelásticidade da pele.....	43
5.3.2.8. Determinação do índice de eritema .....	45
5.3.3. Análise estatística .....	45
<b>6.RESULTADOS .....</b>	<b>46</b>
6.1. Avaliação da atividade antioxidante.....	47
6.2. Testes preliminares de estabilidade .....	48
6.2.1. Determinação do pH.....	48
6.2.2. Centrifugação .....	49
6.2.3. Avaliação visual .....	49
6.3. Estudo da estabilidade física por determinação do comportamento reológico .....	49
6.3.1. Avaliação primária da compatibilidade cutânea.....	67
6.4. Avaliação da eficácia clínica das formulações objeto de estudo.....	69
6.4.1. Avaliação Sensorial .....	69
6.4.2. Avaliação da eficácia clínica por técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele... 74	74



6.4.2.1. Primeira fase dos estudos de avaliação de eficácia .....	74
6.4.2.1.1. Avaliação dos efeitos das formulações por determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidérmica (TEWL), do micro relevo cutâneo, das propriedades mecânicas da pele e do índice de eritema .....	74
6.4.2.1.1.1. Estudo estatístico dos resultados obtidos .....	74
6.4.2.1.1.2. Conteúdo aquoso do estrato córneo.....	75
6.4.2.1.1.3. Perda de água transepidérmica (TEWL) .....	77
6.4.2.1.1.4. Micro-relevo cutâneo.....	79
6.4.2.1.1.5. Propriedades mecânicas da pele por análise das características anisotrópicas.....	85
6.4.2.1.1.6. Índice de eritema .....	87
6.4.2.2. Avaliação dos efeitos das formulações em longo prazo.....	88
6.4.2.2.1. Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidérmica (TEWL), do micro relevo cutâneo, das propriedades mecânicas da pele e do índice de eritema.....	88
6.4.2.2.1.1. Estudo estatístico dos resultados obtidos .....	89
6.4.2.2.1.2. Conteúdo aquoso do estrato córneo.....	89
6.4.2.2.1.3. Perda de água transepidérmica (TEWL) .....	92
6.4.2.2.1.4. Micro-relevo cutâneo.....	95
6.4.2.2.1.5. Propriedades mecânicas da pele por análise das características anisotrópicas....	100
6.4.2.2.1.6. Índice de eritema .....	102
6.4.2.2. Segunda fase dos estudos de avaliação por técnicas biofísicas e de análise de imagem. ....	103
6.4.2.2.1. Avaliação dos efeitos das formulações em longo prazo.....	103
6.4.2.2.1.1. Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidérmica (TEWL), do micro relevo cutâneo e das propriedades mecânicas da pele. .	103
6.4.2.2.1.1.1. Estudo estatístico dos resultados obtidos .....	103
6.4.2.2.1.1.2. Conteúdo aquoso do estrato córneo.....	104
6.4.2.2.1.1.3. Perda de água transepidérmica (TEWL) .....	106
6.4.2.2.1.1.4. Determinação das propriedades mecânicas da pele por análise da viscoelásticidade da pele .....	108
6.4.2.2.1.. Micro-relevo cutâneo.....	110
<b>7.DISSCUSSÃO .....</b>	<b>116</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>129</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>132</b>

## ***1. INTRODUÇÃO***

---

A busca constante da manutenção de uma aparência jovem e saudável tem favorecido cada vez mais o crescimento da indústria cosmética, pois ao lado de uma vida equilibrada e com bons hábitos alimentares, os cosméticos têm participado como grande aliado para prevenir, retardar e até mesmo tratar o envelhecimento cutâneo precoce ou o fotoenvelhecimento (MAIA CAMPOS; SILVA, 2002).

O processo de envelhecimento ocorre tanto por causas genéticas, mudanças hormonais (envelhecimento intrínseco), quanto por influências ambientais, como luz solar, vento, umidade, doenças dermatológicas, fumo, álcool, alimentação, etc. (fatores extrínsecos) (CHIU; KIMBALL, 2003; MARZULLI; MAIBACH, 1996).

Com o grande desenvolvimento tecnológico da indústria cosmética e após uma melhor compreensão da fisiologia da pele, várias substâncias ativas passaram a ser utilizadas em formulações dermocosméticas, com isso, a busca de novas substâncias ativas, bem como a elucidação científica de algumas que já são conhecidas, a serem empregadas em formulações dermocosméticas, é de caráter fundamental.

Desta maneira, a cada ano surgem novos produtos contendo diferentes substâncias ativas, sendo que, dentre estes, os ativos de origem vegetal têm tido grande aplicação na indústria cosmética e apresentam uma grande aceitação pelo mercado consumidor. Dentre os produtos de origem vegetal, os polissacarídeos, como os extraídos da planta *Myrtus communis*, vem se destacando no uso em formulações cosméticas para os cuidados da pele, devido a suas propriedades, que podem conferir diferentes benefícios à pele.

Além dos produtos de origem vegetal, varias substâncias ativas vêm sendo propostas para a aplicação em produtos cosméticos para diferentes finalidades, tais como vitaminas, proteínas, peptídeos, principalmente para a melhoria da hidratação e das condições da pele envelhecida (CHIU, KIMBALL, 2003; LUPO, 2001; IDSON, 1993).

Dentre as vitaminas, além da vitamina A, os profissionais têm demonstrado especial interesse pelas vitaminas C, E e pantenol, pois estas têm apresentado bons resultados no tratamento da pele envelhecida (BURKE, 2007; KELLER; FENSKE, 1998).

Considerando que a tendência atual em termos de formulação é a veiculação de diferentes substâncias ativas num mesmo produto, visando o sinergismo de efeitos e ainda, que com a associação do extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, e os derivados da vitaminas C e E pode-se obter um produto multifuncional, ou seja, com ação hidratante, protetora da função barreira da pele, anti-radicaís livres e ainda podendo atuar na renovação celular e na síntese de colágeno. Por isso é de grande importância o desenvolvimento de

formulações estáveis e seguras contendo estas substâncias visando à obtenção de produtos cada vez mais eficazes.

Para o desenvolvimento de uma formulação cosmética estável, segura e eficaz, é fundamental a escolha adequada das matérias-primas que farão parte da sua composição, ou seja, estas devem ser compatíveis entre si e com as substâncias ativas selecionadas para atender a indicação de uso do produto o que leva à necessidade de estudos de estabilidade e avaliação de eficácia e segurança de uso.

Assim, este trabalho se propõe ao desenvolvimento de formulações cosméticas estáveis contendo extrato de *Myrtus communis* e um complexo vitamínico hidratante à base de D-pantenol e derivados de vitaminas C e E bem como a avaliação da estabilidade física, da segurança e da eficácia clínica destas formulações na hidratação e manutenção da eudermia da pele.

## ***2. REVISÃO DA LITERATURA***

---

## 2.1. Aspectos gerais da pele

A pele é um órgão complexo e heterogêneo que reveste o corpo humano, com uma área de superfície no indivíduo adulto de aproximadamente 2 m<sup>2</sup>, que corresponde a cerca de 10% a 15% da massa corporal, sendo assim considerado o maior órgão do corpo humano. A espessura da pele varia de acordo com as diferentes regiões do corpo humano, podendo chegar a 2 mm em regiões como as palmas das mãos e as plantas dos pés e a apenas 0,5 mm na região dos olhos (LEONARDI, 2004; GOLDSMITH, 1990).

As principais funções que a pele exerce em nosso corpo, são proteger os órgãos internos contra a luz ultravioleta e agressões mecânicas, químicas e térmicas; evitar a desidratação excessiva e a invasão de microorganismos (IOBST, SANTHANAM, WEINKAUF, 2006; EDWARDS; MARKS, 1995; GOLDSMITH, 1990). Além disso, a pele tem a função de conferir sensibilidade por possuir uma variedade de receptores para tato, temperatura, dor e pressão; tem ação termorreguladora, devido à presença de pêlos e tecido adiposo subcutâneo, que juntos impedem a perda excessiva de temperatura, e também através da secreção das glândulas sudoríparas, que ao ser lançada na superfície da pele, evaporar-se e garante a diminuição da temperatura corporal quando isso se faz necessário (IOBST, SANTHANAM, WEINKAUF, 2006).

A pele também apresenta funções metabólicas, uma vez que os triglicerídeos encontrados no tecido adiposo (hipoderme) representam importante reserva de energia, enquanto que a síntese de vitamina D, que ocorre na epiderme, é indispensável para complementar a quantidade desta vitamina obtida na dieta alimentar (HALLER, 1989)

A pele é composta essencialmente de três camadas de tecidos: uma superior – a epiderme; uma camada intermediária – a derme e uma camada mais profunda a hipoderme (LEONARDI, 2004; VERMA, 2003).

A epiderme é uma camada formada por um epitélio pavimentoso estratificado. Em locais do corpo onde a pele é mais espessa (por exemplo, nas palmas das mãos e nas plantas dos pés), podem ser distinguidas cinco camadas na epiderme. Começando da mais profunda em direção à superfície, há a camada basal, a camada espinhosa, a camada granulosa, camada lúcida e a camada córnea. A camada lúcida não está presente na pele fina (LEONARDI, 2004; EDWARDS; MARKS, 1995).

As células da epiderme constituem um sistema dinâmico que está em constante renovação, desde a sua junção com a derme até a superfície do estrato córneo, onde se efetua uma descamação permanente (KOCH, ROOP, ZHOU, 2006; LEONARDI, 2004).

A camada basal também chamada de camada germinativa, por conter células em divisão, é a mais interna e consiste de uma fileira única de células cúbicas que possuem uma alta atividade reprodutiva, tendo por função garantir a renovação da epiderme, uma vez que as células recém-produzidas migram em direção às camadas superiores, num processo em que ocorrem modificações graduais na sua forma e composição química (LEONARDI, 2004; EDWARDS; MARKS, 1995).

A camada espinhosa é formada por células volumosas e poliédricas, dando a elas um aspecto espinhoso que se encontram em fase de crescimento e no início da síntese de queratina. A camada granulosa, por sua vez, é constituída por células poligonais com núcleo central em seu último estágio de diferenciação, que ao serem totalmente queratinizadas, tornam-se anucleadas e perdem sua capacidade metabólica, passando a formar o estrato córneo, onde sofrem um processo de esfoliação. A camada córnea é, então, formada por camadas extremamente coesas de corpos de células epidérmicas, os corneócitos, que desempenham o papel fundamental de proteger os tecidos vivos da perda de água, mantendo-os adequadamente hidratados (LEONARDI, 2004; EDWARDS; MARKS, 1995).

Existe, portanto, um processo denominado renovação epidérmica que consiste no deslocamento permanente e repetido de células que da camada basal atingem a superfície da epiderme, de onde se desprendem já mortas. Esse processo se completa aproximadamente em duas semanas em pessoas jovens e em torno de 37 dias em pessoas com idade superior a 50 anos, resultando em uma eliminação diária de cerca de seis a quatorze gramas de células mortas (EDWARDS; MARKS, 1995).

A derme é uma camada vascularizada de tecido conjuntivo denso fibroelástico, que nutre a epiderme e protege o corpo contra as lesões mecânicas. Nesta camada estão presentes as raízes dos pêlos, as glândulas, terminações nervosas, arteríolas e vênulas, por onde circulam o sangue, alguns tipos de células (sendo a maioria fibroblastos) e fibras de colágeno e elastina (MAC-RAY et al., 2006; HOLBROOK; WOLFF, 1993; WHEATER).

Por fim, a hipoderme que é a camada mais profunda da pele, apresenta espessura variável e constitui-se principalmente de células de gordura denominadas adipócitos, que além de servir como depósito nutritivo de reserva, participa do isolamento térmico e na proteção mecânica do organismo às pressões e traumatismos externos (LEONARDI, 2004).

O envelhecimento cutâneo é resultado da influência de uma série de fatores, que podem ser divididos em intrínseco (cronológico) e extrínsecos (envelhecimento precoce). O envelhecimento intrínseco é resultante do declínio “geneticamente programado” das funções vitais que garantem o bom funcionamento do organismo, que pode resultar em afinamento da epiderme e aumento da sua fragilidade, diminuição da espessura dérmica e da vascularização, redução do número de fibroblastos e da sua capacidade metabólica, além de uma resposta menor a fatores de crescimento. Enquanto que o denominado envelhecimento extrínseco, é aquele causado por vários fatores externos ao organismo principalmente pela radiação ultravioleta (UV), poluição atmosférica, traumatismos, hábito de fumar e metabólitos de substâncias ingeridas ou inaladas (SAYRE et al., 1994). A intensificação dos danos solares crônicos sobre o envelhecimento intrínseco é denominada fotoenvelhecimento, o qual se apresenta como uma intensificação do envelhecimento cronológico, além do aparecimento de características diferentes do envelhecimento comum, como por exemplo, irregularidades de pigmentação, rugas, mudanças na textura da pele e uma variedade de lesões malignas (BEITNER, 2003; YAAR; ELLER; GILCHREST, 2002; ENJELKE et al., 1997).

Desta maneira a manutenção da integridade estrutural da pele bem como a restauração das suas propriedades de barreira, torna-se de fundamental importância para a manutenção de uma pele saudável (BURACZEWSKA et al., 2007).

Assim, a cada ano surgem novos produtos contendo substâncias ativas, sendo que, dentre estes, os produtos de origem vegetal vem sendo muito utilizados em formulações cosméticas em associação com vitaminas.

## **2.2. Extratos vegetais em cosméticos - *Myrtus communis***

Produtos de origem vegetal têm tido grande aplicação na indústria cosmética e apresentam uma grande aceitação pelo mercado consumidor, que busca benefícios relacionados a essas substâncias naturais. As propriedades antioxidantes dos extratos vegetais, ao lado da composição destes, rica em substâncias com características umectantes, emolientes, suavizantes dentre outros, podem vir a minimizar os efeitos do envelhecimento decorrentes dos radicais livres e ressecamento da pele e ainda melhorar danos causados por irritação.



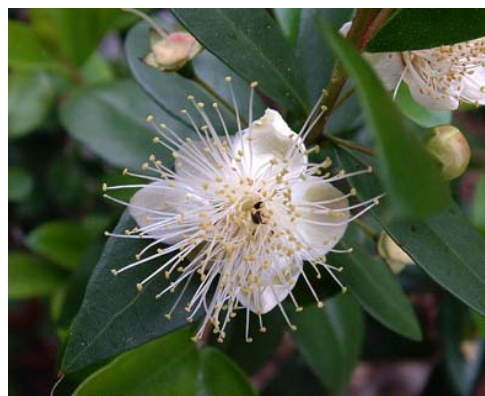
Dentre os produtos de origem vegetal, os polissacarídeos, como os extraídos da planta *Myrtus communis*, vem se destacando no uso em formulações cosméticas para os cuidados da pele, devido a suas propriedades, que podem conferir diferentes benefícios à pele (BRAVO, 1998).

A planta *Myrtus communis*, popularmente conhecida como murta, é um arbusto (Figura 1A) que em determinadas épocas do ano floresce (Figura 1B), e suas flores têm aroma característicos, sendo nativa de regiões do mediterrâneo, tem sido muito utilizada como anti-séptico e antiinflamatório (BRAVO, 1998). Essas propriedades são atribuídas pela presença do floroglucinol em seu óleo essencial, bem como a presença de polifenóis, como os flavonóides (YOSIMURA et al., 2008), sendo que vários compostos vem sendo isolados de suas folhas, seus óleos essenciais e frutos (MONTORO et al., 2006).

A)



B)



**Figura 1:** Foto do arbusto (A) e da flor (B) de *Myrtus Communis*. Disponível em ([http://www.uni-graz.at/~katzer/engl/Myrt\\_com.html](http://www.uni-graz.at/~katzer/engl/Myrt_com.html)). Acesso em 25.06.2010.

As folhas de *Myrtus communis* são uma fonte rica de flavonóides, especialmente glicosídeos de miricetina (ramnopiranosídeos), aos quais são atribuídos um alto poder antioxidante, sobretudo à miricetina-3-O-raminose, entre outros (APPENDINO et al., 2006; MONTORO et al., 2006), seu extrato hidrolisado apresenta diferentes tipos de açúcares tais como o ácido galacturônico, ramnose, galactose, glicose, xilose e frutose. Alguns estudos mostraram que esse extrato reduz a glicação do colágeno, responsável pela perda de sua função biológica e conseqüentemente por uma rigidez tecidual. Além disso, melhora a comunicação celular, alterando a expressão de moléculas (caveolina-1) em células senescentes, o que aumenta a sua capacidade proliferativa (PARK et al., 2000). Podem ainda atuar na função barreira da pele, uma vez que as caveolinas estão relacionadas com a

organização e função de grânulos lamelares presentes na camada granulosa (SANDO et al., 2003).

Em função de suas propriedades acima descritas, os polissacarídeos de origem vegetal, podem conferir diferentes benefícios à pele, e não existam trabalhos que comprovem a eficácia de formulações cosméticas contendo este ativo na pele, é de fundamental importância avaliar a eficácia de formulações contendo essa substância nas condições normais de uso, ou seja, na pele humana.

### **2.3. Vitaminas em cosméticos**

Com o melhor conhecimento da fisiologia da pele, do cabelo e das unhas, aumentou-se o interesse da aplicação de vitaminas em formulações de uso tópico (LEONARDI, 2004; PAOLA et al., 1998; IDSON, 1993).

O emprego progressivamente maior de vitaminas nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia, confere a elas uma importância extraordinária. Por conseguinte, é compreensível todo o trabalho que vem sendo desenvolvido para a obtenção de formulações estáveis e eficazes que as contenham.

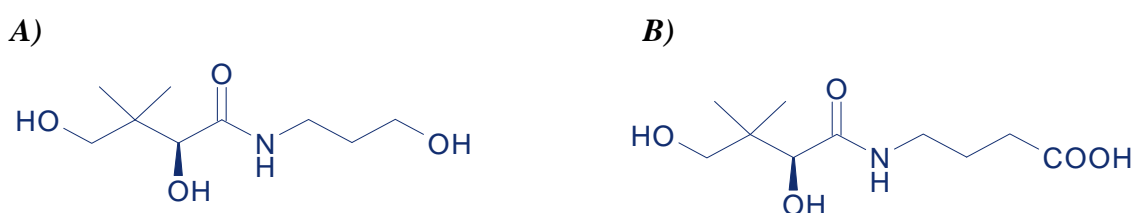
Na área cosmética, especificamente, as vitaminas têm despertado grande interesse em função de suas propriedades farmacodinâmicas sendo que, dentre estas, destacam-se os efeitos umectante e emoliente, a atividade antioxidante e protetora contra os danos causados pelos raios ultravioletas e o controle na queratinização e melanogênese (BURKE, 2007; LEONARDI et al., 2006; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003a; LUPO, 2001; GEHRING; GLOOR, 2000; SILVA; MAIA CAMPOS, 2000).

Dessa maneira, para o controle de determinados processos cutâneos degenerativos, associados às alterações fisiológicas, vem sendo recomendado o uso tópico de vitaminas como fatores de restabelecimento da homeostase. (LEONARDI, 2004; IDSON, 1993).

Nas áreas cosmética e dermatológica, os profissionais têm demonstrado especial interesse pelas vitaminas A, C, E e pantenol (pró-vitamina B5), pois estas têm apresentado bons resultados no tratamento da pele envelhecida. A forma éster das vitaminas A, C e E (palmitato de retinila, tetraisopalmitato de ascorbila e acetato de tocoferila, respectivamente) têm sido mais utilizadas em função de apresentarem maior estabilidade (BURKE, 2007; KELLER; FENSKE, 1998; IDSON, 1993).

Dentre as vitaminas, o pantenol, em função de proporcionar a pele efeito hidratante pronunciado devido à proteção da função barreira da pele (CAMARGO JUNIOR; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2007; BIRO et al., 2003), vem sendo bastante empregado em diversos tipos formulações cosméticas para os cuidados da pele.

O pantenol é uma pró-vitamina que corresponde a um álcool biologicamente ativo (Figura 2A), e quando aplicado topicamente é convertido a ácido pantotênico (vitamina B5) (Figura 2B), um constituinte natural da pele e do cabelo (EBNER et al., 2002). Esse tem sido descrito como agente umectante para pele (CAMARGO JUNIOR; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2007), cabelos e unhas, podendo também apresentar propriedades cicatrizantes e antiinflamatórias (BIRO et al., 2003; EBNER, 2002; PAOLA et al., 1998; IDSON, 1993), sendo, portanto, amplamente empregado em um grande número de preparações cosméticas e farmacêuticas, tais como cremes e loções para a face e corpo, xampus e condicionadores (LEONARDI, et al., 2006; BADRA et al., 1994).



**Figura 2.** Estruturas moleculares do pantenol (A) e do ácido pantotênico (B).

O ácido pantotênico pode ser sintetizado por bactérias intestinais, sendo encontrado na carne, grãos integrais, gérmen de trigo, soro do leite, rins, fígado, coração, verduras, levedura de cerveja, frutas secas, frango e melão (PAOLA et al., 1998).

Este ativo está disponível em duas formas, o isômero dextro-rotatório, d-pantenol, e a forma racêmica, dl-pantenol. A atividade fisiológica da forma racêmica é inferior à atividade do isômero dextro-rotatório. O d-pantenol é um líquido incolor, viscoso, enquanto que o dl-pantenol é um pó branco cristalino. Ambos são bem solúveis em água e são mais estáveis na faixa de pH 4-7, sendo o pH ótimo aproximadamente 6. A hidrólise ocorre de forma crescente à medida que o pH varia a partir do pH ótimo. Ambas as formas são insolúveis em gorduras e óleos (PAOLA et al., 1998; IDSON, 1993).

Em produtos para o cabelo esta pró-vitamina parece ter valor especial, particularmente como um condicionador, evitando quebras, e assim mantendo um aspecto natural. O pantenol penetra na haste de forma osmótica e se mantém de forma substantiva após o enxágue,

ajudando na retenção da umidade e assim evita a sensação de ressecamento e de fragilidade. Portanto o pantenol pode espessar ou intumescer o cabelo humano normal em mais de 10%, o que no caso da água, esse efeito seria em torno de 1% (PAOLA et al., 1998; IDSON, 1993).

Após um único ciclo de tratamento a quantidade total de pantenol depositada sobre o cabelo danificado (descolorido) é significativamente maior que sobre o cabelo normal (4,6 vezes para 0,5% de pantenol) (IDSON, 1993).

Em relação à pele, este órgão tem uma necessidade relativamente alta de coenzima A, a forma biologicamente ativa do ácido d-pantotênico. É essencial para o funcionamento normal dos tecidos epiteliais, sendo um constituinte natural da pele saudável. As manifestações da pele relativas à deficiência do ácido pantotênico são bem conhecidas e incluem cornificação, despigmentação e descamação (EBNER et al., 2002; IDSON, 1993).

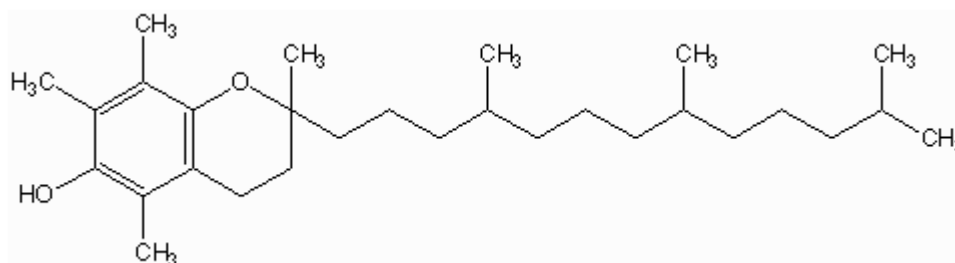
Graças a sua capacidade de penetração e ao seu caráter umectante, o pantenol pode agir como hidratante da pele, sendo incorporado em produtos como, cremes, loções ou tônicos, normalmente em concentrações que variam entre 0,5 e 5%, a fim de aliviar o ressecamento da pele envelhecida, estimulando a sua umectação. Neste processo, o pantenol fornece à pele uma sensação suave, leve sem ser gorduroso ou pegajoso (IDSON, 1993).

O pantenol também acelera o processo de regeneração celular da pele, o que auxilia na cicatrização de lesões superficiais presentes em queimaduras, fissuras, escaras, lesões córneas, dermatoses ulcerativas e piogênicas e dermatites alérgicas, resultando em bons resultados estéticos. Além disso, o pantenol eleva a resistência a inflamações e alivia coceiras devido a uma possível ação anti-histamínica (EBNER et al., 2002; PAOLA et al., 1998; IDSON, 1993).

Conforme mencionado anteriormente, além do pantenol, a vitamina E tem sido muito usada em produtos para os cuidados da pele, uma vez que tem sido descrita como o principal antioxidante da epiderme humana, e um marcador sensível para o dano oxidativo relacionado à exposição solar (THIELE et al., 2001).

A vitamina E livre, tocoferol (Figura 3) e a sua forma éster, acetato de tocoferila, sendo esta última considerada mais estável, são as formas de vitamina E mais encontradas em formulações cosméticas (BURKE, 2007; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003a; MCVEAN; LIEBLER, 1997), porém, assim como outras vitaminas, a forma acetato deverá penetrar na epiderme viável e ser convertida em vitamina E livre (BURKE, 2007; IDSON, 1993; TREVITHICK; MITTON, 1992) para que apresente eficácia no tratamento antienvelhecimento. Rangarajan e Zatz (2003, 2001) observaram, que a absorção cutânea e o

metabolismo da vitamina E acetato é dependente da formulação, o que demonstra a importância do veículo e do sistema de liberação para a obtenção da performance de um cosmético.



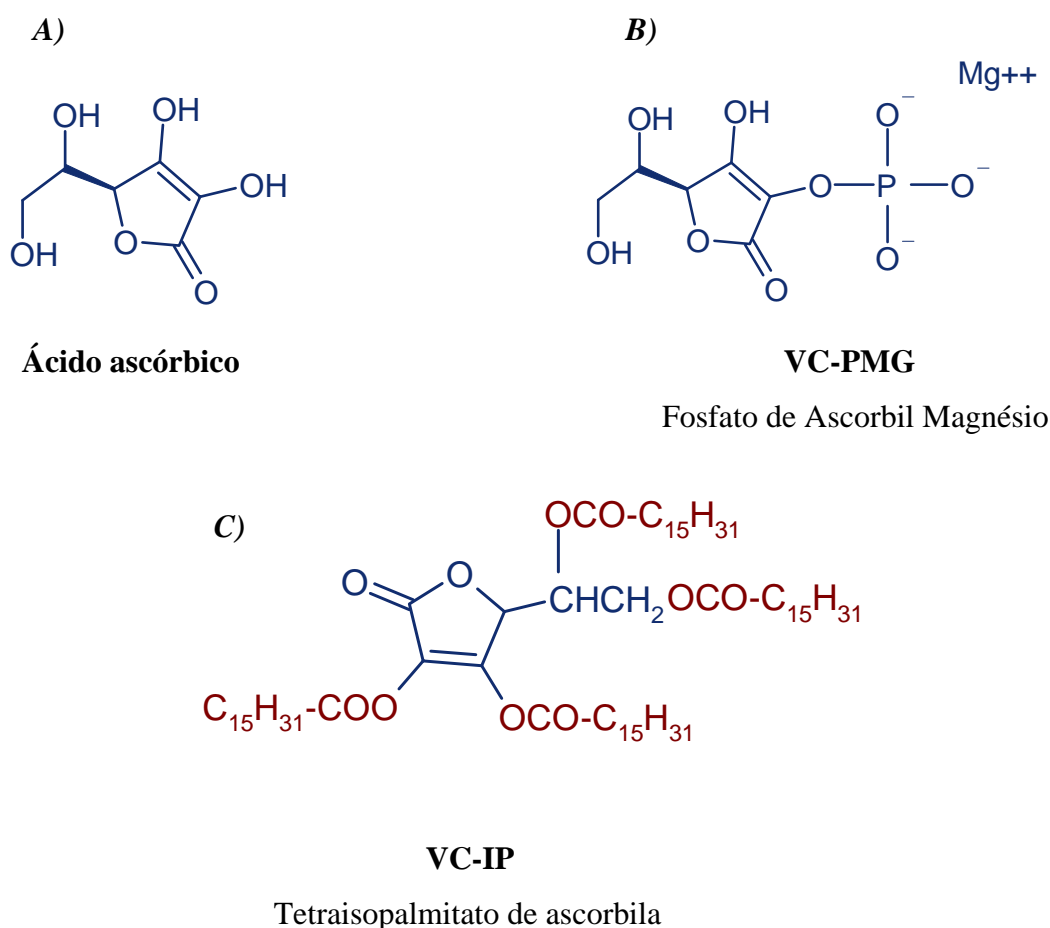
**Figura 3.** Estrutura molecular do Alfa tocoferol

Alguns estudos realizados em camundongos sem pêlo mostraram que a vitamina E pode reduzir os danos ao colágeno, inibir a geração de radicais superóxido, a peroxidação lipídica, reduzir a formação de rugas, o eritema e o edema induzidos pela radiação UV (THIELE, EKANAYAKE-MUDUYANSELAGE, 2007; TREVITHICK et al., 1992; BISSET et al., 1990). Entretanto, apesar de apresentar resultados promissores no tratamento do envelhecimento intrínseco e no fotoenvelhecimento, poucos estudos de eficácia têm sido realizados em voluntários humanos. Entre os estudos realizados, podemos citar os estudos de Gehring et al. (1998) que observaram que a aplicação tópica da vitamina E aumentou a hidratação do estrato córneo e o estudo de Mayer (1993), que observou que esta vitamina reduziu a aspereza e a profundidade das rugas faciais.

Além da grande aplicação tópica da vitamina E, devido às suas propriedades acima mencionadas, nos últimos anos, a vitamina C também vem ganhando grande notoriedade como substância ativa com finalidade antienvhecimento (BURKE, 2007; CHIU; KIMBALL, 2003), sendo que o ácido ascórbico, sua forma biologicamente ativa, de acordo com estudos *in vitro*, mostrou ação antioxidante, despigmentante e na síntese de colágeno (SHAPIRO; SALIOU, 2001; COLVEN; PINNELL, 1996; KAMEYAMA et al., 1996). A eficácia da vitamina C na prevenção dos danos da radiação solar e melhoria das condições da pele fotoenvelhecida foram demonstradas por estudos científicos em animais e em humanos (HUMBERT et al., 2003; DARR et al., 1996).

Entretanto, devido à sua rápida oxidação em soluções aquosas, e conseqüentemente a instabilidade em formulações cosméticas, o seu uso tem sido limitado. Sendo assim, derivados hidro e lipossolúveis do ácido ascórbico (Figura 4A), tais como o fosfato de

ascorbil magnésio (Figura 4B), o palmitato de ascorbila e o tetraisopalmitato de ascorbila (Figura 4C), vêm sendo propostos para a utilização em formulações de uso tópico em função de estes apresentarem maior estabilidade (SPICLIN et al., 2001; AUSTRIA et al., 1997).



**Figura 4.** Estruturas moleculares do Ácido ascórbico (A), do VC-PMG - Fosfato de Ascorbil Magnésio (B) e do VC-IP - Tetraisopalmitato de ascorbila (C).

Assim, alguns estudos vêm sendo realizados para avaliar se os efeitos acima descritos para o ácido ascórbico podem ser extrapolados para os seus derivados (MAIA CAMPOS; MOSCARDI; GASPAR, 2004; GASPAR; KANASHIRO; MAIA CAMPOS, 2003; SILVA; MAIA CAMPOS, 2000).

Um dos estudos que podemos comentar, é o de Gaspar et al. (2003), que avaliaram a atividade antioxidante *in vitro* do ácido ascórbico, do fosfato de ascorbil magnésio e do tetraisopalmitato de ascorbila (derivado lipossolúvel), sugerindo que estes apresentaram eficácia na neutralização de radicais livres, e o de Maia Campos et al. (2008), que avaliaram a eficácia de formulações dermocosméticas contendo ácido ascórbico ou fosfato de ascorbil

magnésio (derivado hidrossolúvel) na pele humana por métodos biofísicos e concluíram que ambos atuaram nas propriedades visco-elásticas da pele e aumentaram a hidratação cutânea.

Considerando que a tendência atual em termos de formulação é a veiculação de diferentes substâncias ativas num mesmo produto, visando o sinergismo de efeitos e ainda, a associação do extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, e os derivados da vitaminas C e E pode-se obter um produto multifuncional, com alto poder hidratante, protetor da função barreira da pele, anti-radicaís livres e ainda podendo atuar na renovação celular.

#### **2.4. Estabilidade física de formulações cosméticas - Reologia**

A estabilidade física é a propriedade que os produtos cosméticos apresentam de manter, de forma inalterada as suas características físicas, como cor, odor, textura, consistência, sensação ao tato e comportamento reológico, após a sua fabricação (D'LEÓN, 2001).

Um dos métodos empregados para a avaliação da estabilidade física de formulações cosméticas, o estresse por armazenagem em temperaturas elevadas, tem sido amplamente empregado, tanto em instituições de pesquisa, quanto em empresas da área cosmética (MAIA CAMPOS; SILVA, 2000).

Uma vez que a adição de substâncias ativas em formulações cosméticas pode causar instabilidade a estas, tais como diminuição da viscosidade e alteração das características reológicas da mesma. Entre os testes de estabilidade física, a avaliação do comportamento reológico tem tido grande e crescente interesse na indústria cosmética e farmacêutica, tendo em vista que a consistência e o espalhamento dos produtos devem ser reproduzidos de lote para lote, assegurando a qualidade tecnológica do produto acabado (ZANATA, et al., 2010; LEONARDI, 2004; LEONARDI; MAIA CAMPOS, 2001).

O estudo da reologia visa obter informações sobre as propriedades de escoamento e deformação de materiais sob a influência de forças externas (LABA, 1993).

Os materiais em geral, podem apresentar dois diferentes tipos de comportamento de acordo com as características de fluxo: Newtonianos e não-Newtonianos. O fluxo Newtoniano apresenta valores constantes de viscosidade, independente da força externa aplicada. O fluxo não-Newtoniano apresenta diminuição ou aumento nos valores de viscosidade em relação à força externa aplicada, ou seja, ao aumento da tensão de cisalhamento. Os fluxos não-

Newtonianos são denominados de dilatantes, quando apresentam aumento nos valores de viscosidade e plásticos ou pseudoplásticos quando apresentam diminuição nos valores de viscosidade em relação ao aumento da tensão de cisalhamento (MARTIN; BUSTAMANTE; CHUN, 1993).

O fluxo pseudoplástico é o mais comum e mais interessante para os produtos cosméticos, que muitas vezes necessitam de uma viscosidade inicial adequada, e um determinado índice de fluidez no momento da aplicação, permitindo um bom espalhamento e uma melhor cobertura da pele (DAHMS, 1996).

Assim a avaliação do comportamento reológico assume cada vez mais importância, pois a análise dos parâmetros viscosidade, índice de fluxo, índice de consistência e tixotropia, permitem compreender melhor a natureza físico-química do veículo na fase de desenvolvimento, controlar a qualidade de matérias-primas e produtos acabados, e ainda, verificar o efeito da consistência do produto na liberação e penetração cutânea de substâncias ativas, permitindo também detectar possíveis instabilidades que possam ocorrer na formulação durante o período de estocagem, podendo assim contribuir na previsão do prazo de validade da mesma (ZANATA, et al., 2010; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003b; BRUMMER; GODERSKY, 1999; CALLEGOS, 1999; FOSTER; HERRINGTON, 1998; BARNES, 1994; LABA, 1993).

## **2.5. Avaliação da segurança de produtos cosméticos**

A avaliação da segurança de produtos cosméticos é de fundamental importância, para que se possa oferecer ao usuário o máximo de segurança com o menor risco, garantindo as melhores condições de uso do produto. A partir de informações pré-clínicas coletadas, deve haver a comprovação de segurança de uso em humanos. Estas informações são importantes para determinação do modo e local de uso, advertências de rotulagem e orientações para o serviço de atendimento ao consumidor (BRASIL – ANVISA, 2003). Além disso, para que um produto seja considerado “dermatologicamente testado”, ensaios de compatibilidade cutânea devem ser realizados.

A compatibilidade cutânea é definida como a ausência de irritação na pele sob circunstâncias normais de uso e sob condições de mau uso razoavelmente previsíveis que levam em consideração reações objetivas assim como respostas subjetivas tais como sensação de pinicação, queimação ou coceira (BRASIL – ANVISA, 2003).



Os ensaios de compatibilidade têm por objetivo comprovar a inocuidade dos produtos na pele humana, sendo realizados, de modo geral, com apósitos oclusivos ou semi-oclusivos (*patch tests*) ou em modelos abertos (*open tests*). Representam o primeiro contato do produto acabado com um ser humano e por isso devem seguir premissas de ordem ética e de boas práticas clínicas (BRASIL – ANVISA, 2003).

O principal ensaio de compatibilidade é o Teste de Irritação Cutânea Primária e Acumulada, no qual o produto é aplicado de forma aberta, semi-oclusiva ou oclusiva, de acordo com o produto a ser avaliado. A duração do contato e periodicidade das leituras são padronizadas e a interpretação dos resultados é feita por um dermatologista, considerando o ICDRG (International Contact Dermatitis Research Group) (BRASIL – ANVISA, 2003).

Este teste pode ser usado para avaliar novas formulações com matérias-primas conhecidas, sendo possível fazer avaliações comparativas de diversas formulações no mesmo indivíduo, incluindo geralmente um padrão que não provoca reação, como o soro fisiológico, por exemplo. As formulações são aplicadas em pequenas cúpulas de inox presentes no apósito, e em seguida este é aplicado nas costas ou no antebraço dos voluntários durante um período mínimo de 24 horas.

Assim, a realização de um teste de compatibilidade cutânea é importante para fornecer informações em relação à segurança de uso das formulações contendo a associação do extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, antes da realização de estudos clínicos de eficácia.

## **2.6. Avaliação Clínica de formulações cosméticas**

### **2.6.1. Avaliação Sensorial**

Além dos estudos de estabilidade, outro fator importante no desenvolvimento de uma formulação, é o tipo de formula que o formulador vai escolher para o produto que está sendo desenvolvido, uma vez que a aceitação do consumidor frente às características sensoriais de uma formulação pode influir de maneira importante na escolha do produto. Uma vez que, o usuário pode variar a forma de aplicação, a frequência de uso e a quantidade de produto utilizada, dependendo de uma maior ou menor aceitação das características sensoriais e de espalhabilidade deste (GOMES et al., 1998).

Assim, a avaliação sensorial torna-se um instrumento importante no desenvolvimento de uma formulação que pode influir significativamente, o sucesso de um produto cosmético, levando em consideração que as percepções de qualidade de um produto para um formulador e um consumidor são diferentes; a qualidade avaliada por um formulador é baseada na confiabilidade de um produto durante o tempo de armazenagem em diferentes condições ambientais, priorizando a conservação das propriedades originais do produto: forma de apresentação e ativos. Para o consumidor, a qualidade de um produto está diretamente relacionada com sua percepção fisiológica e sua sensação de bem estar produzida durante e depois da aplicação (TACHINARDI et al., 2005).

Após a realização de um estudo das características sensoriais de um produto, podemos direcioná-lo para um determinado segmento de mercado e assim minimizar os problemas de aceitação, aproximando-se do “produto ideal”. Nesse sentido, a avaliação sensorial se apresenta como o melhor caminho para a área de marketing e a área de desenvolvimento de uma empresa criar uma efetiva e bem sucedida parceria no lançamento de novos produtos de sucesso (TACHINARDI et al., 2005).

## **2.6.2. Técnicas de biofísicas e de análise de imagem**

Além de estudos de estabilidade e de avaliação sensorial, torna-se também de grande importância a avaliação da eficácia das formulações cosméticas, nas reais condições de uso, ou seja, na pele humana por métodos não invasivos, através de técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele.

As técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele consistem no estudo das características biológicas, mecânicas e funcionais da pele por meio de medidas objetivas e criteriosas de algumas variáveis, por métodos *in vivo* não invasivos cientificamente comprovados, que não causam desconforto ao voluntário (DARLENSKI et al., 2009; BARBA et al., 2008; ARTRUX-TALLAU, et al., 2008; PAYE et al., 2007; SILVER et al., 2003; PIERARD 2002; EGAWA et al., 2002a; WIECHERS; BARLOW, 1999; BENAIGES et al., 1998; HENRY et al., 1996; LOMUTO et al., 1995; BERARDESCA, 1994).

Algumas das variáveis que podem ser analisadas pelas técnicas de biofísica e análise de imagem da pele incluem a determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, a perda de água transepidérmica (DARLENSKI et al., 2009; BURACZEWSKA; BROSTROM; LODÉN, 2007; EGAWA et al., 2002b; HASHIMOTO-KUMASAKA et al. 1993), as

características visco-elásticas da pele (SMALLS; WICKETT; VISSCHER, 2006; DOBREV, 2000), o micro-relevo cutâneo e a disposição das fibras de colágeno e elastina ou anisotropia da pele (LEE et al., 2008; KOH et al., 2002; UHODA et al., 2002; DE PAEPE et al., 2000).

O emprego constante de metodologias não invasivas para a avaliação dos efeitos de formulações cosméticas na pele tem proporcionado o desenvolvimento de inúmeros equipamentos para leitura dos diferentes parâmetros (HILLEBRAND et al., 2010; CHUARIENTHOMG; LOURITH; LEELAPORNPISID, 2010; DARLENSKI et al., 2009; LEE et al., 2008; EGAWA et al., 2002a; BERARDESCA et al., 1991).

O conteúdo aquoso do estrato córneo é mantido por um filme hidrolipídico encontrado na pele, que tem como funções: formar uma barreira de proteção acídica evitando a penetração de substâncias danosas ao organismo, proteger a pele do ressecamento e manter a sua flexibilidade (SMITH, 1999; SPENCER, 1998).

Dentre os vários métodos propostos para a determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, o método da capacitância tem sido o mais empregado, pois utiliza corrente de baixa frequência e é pouco afetado pela temperatura e umidade relativas. O Corneometer<sup>®</sup> é um equipamento baseado na medida da capacitância, e vem sendo muito utilizado na avaliação do conteúdo aquoso do estrato córneo por apresentar alta sensibilidade (DARLENSKI et al., 2009; COUTEAU; COIFFARD; SEBILLE-RIVAIN, 2006; O'GOSHI; SERUP, 2005; SAGIV; MARCUS, 2003; EGAWA et al., 2002b; ROGIERS, 1996).

Uma vez que substâncias tidas como hidratantes podem atuar na pele por dois mecanismos diferentes, sendo o mecanismo ativo através da retenção de água na pele devido às características higroscópicas, e o passivo, prevenindo a perda água da pele, criando uma barreira superficial sobre a mesma, outro parâmetro a ser quantificado é a perda de água transepidérmica (TEWL), pelo aparelho Tewameter<sup>®</sup> TM 210. Muitos são os agentes que atuam diminuindo a perda de água na superfície da pele, mas isto é dado por diferentes mecanismos. Por exemplo, os emolientes como os óleos vegetais, formam um filme graxo na superfície da pele, obstruindo-a e impedindo assim a perda de água. O Tewameter<sup>®</sup> TM 210 pode medir essa perda de água transepidérmica, através do gradiente de pressão da água adjacente à superfície da pele. Assim, quanto maior for o valor obtido, pior será a função barreira da pele (BURACZEWSKA, BROSTROM, LODÉN, 2007; CURDY et al., 2004; LODEN, 2003; ROGIERS, 2001).

As propriedades mecânicas da pele têm sido amplamente estudadas, principalmente quando relacionadas à eficácia de produtos (SMALLS, WICKETT, VISSCHER, 2006;

DOBREV 2002, 2000). Devido a sua estrutura organizacional, a pele é visco-elástica, ou seja, possui propriedades plásticas e elásticas que são alteradas com o envelhecimento cutâneo. Estas propriedades têm sido analisadas principalmente com o uso do equipamento Cutometer<sup>®</sup> cujo princípio é a sucção e o alongamento da pele.

Podemos mencionar ainda o Reviscometer<sup>®</sup> RV600, o qual determina a direção das fibras de colágeno e elastina na pele por meio de uma onda de ultra-som, sendo que quanto maior o tempo para percorrer uma determinada distância, maior a desorganização das fibras de colágeno e elastina, o que reflete na diminuição da firmeza e elasticidade da pele (UHODA et al., 2002). Com este equipamento, é possível determinar as propriedades mecânicas da pele por meio do cálculo da anisotropia da pele, esta razão é sempre maior que 1 exceto no caso de uma pele isotrópica, sendo que, quando mais próximo de 1 esta razão, menor será a anisotropia da pele, ou seja, menor será a desorganização das fibras elásticas, o que reflete no aumento da firmeza da pele (RUVOLO; STAMATAS; KOLLIAS, 2007; VEXLER; POLYANKY; GORODETSKY, 1999).

As técnicas de biofísicas e análise da imagem da pele incluem ainda equipamentos que determinam o micro-relevo cutâneo, o qual é modificado frente a alterações cutâneas tais como eczema tópico, psoríase, ictiose, onde o mau funcionamento da função barreira da pele induz à aspereza e descamação da pele, deixando-a com a aparência seca. Além destas condições patológicas, o estudo do micro-relevo cutâneo é um indicador confiável para a avaliação do processo de envelhecimento (LEE et al., 2008; DE PAEPE et al., 2000). Com o envelhecimento, o micro-relevo cutâneo se modifica devido a alterações na epiderme e na derme, as quais resultam na sensação de aspereza, além de terem impacto na aparência geral da pele, e podem ser detectadas com o equipamento Visioscan<sup>®</sup> VC 98, o qual permite a avaliação quali e quantitativa da superfície da pele nas condições fisiológicas, por meio de técnicas de profilometria óptica. Outro equipamento utilizado é o Skin Visiometer<sup>®</sup>, cujo princípio baseia-se na transmissão de luz através de réplicas de silicone (KOH et al., 2002; DE PAEPE et al., 2000).

A rugosidade da pele é o conjunto de irregularidades, isto é, pequenas saliências (picos) e reentrâncias (vales) que caracterizam sua superfície (LI et al., 2006), com a idade a distância entre os picos e vales aumentam em função do ressecamento progressivo e da presença de rugas mais profundas.

De acordo com os trabalhos que vem sendo realizados com as técnicas de biofísicas e análise de imagem, acreditamos que quanto maior o número de técnicas envolvidas, mais

conclusivos serão os resultados obtidos, pois uma complementa a outra, por exemplo, quando se obtém alterações nas variáveis visco-elásticas (Cutometer<sup>®</sup>), é possível, por meio da avaliação da umectação cutânea (Corneometer<sup>®</sup>) e da organização das fibras de colágeno e elastina (Reviscometer<sup>®</sup>) concluir se as alterações na relação visco-elasticidade x elasticidade ocorreram em função apenas de hidratação ou pelo aumento da firmeza da pele.

Finalizando, devido a grande procura por produtos que ofereçam diferentes benefícios para a pele, é de grande importância o desenvolvimento de formulações estáveis contendo estas substâncias visando à obtenção de produtos cada vez mais eficazes, sendo ainda que a comprovação científica destes efeitos propostos por meio das técnicas de biofísicas e análise de imagem, as quais têm sido recomendadas por agências regulatórias, tais como ANVISA, FDA e COLIPA, (DAL'BELO; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2006; LEONARDI; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2002), é primordial para o registro de tais produtos e para a credibilidade dos produtos cosméticos.

### ***3. OBJETIVO***

---

O objetivo desse trabalho é a avaliação da estabilidade, da compatibilidade cutânea e da eficácia clínica de formulações cosméticas, contendo extrato de *Myrtus communis* e um complexo vitamínico hidratante à base de D-pantenol e derivados de vitaminas C e E.

## ***4. MATERIAL E MÉTODOS***

---



#### 4.1. Matérias-primas

- Álcool isopropílico, JT Baker;
- Água destilada e deionizada;
- Dimetilsulfóxido (DMSO), Merck;
- Enzima HRP (horseradish peroxidase), Sigma-Aldrich;
- Extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, Longevicell<sup>®</sup>, Silab, Galena;
- Fosfato de sódio bibásico, Sharlau;
- Glicerina PA;
- Luminol, Sigma-Aldrich;
- Metildibromoglutanonitrila e fenoxietanol, Cosmoguard<sup>®</sup>, Galena;
- Metilfenil polisiloxano Microemulsão de silicone, Net FS<sup>®</sup>, Nikko Chemicals;
- NaOH (sol 10%);
- D-pantenol, DSM;
- Peróxido de hidrogênio 36%, Calbiochem;
- Polímero de acrilatos - Plurigel<sup>®</sup> - Propilenoglicol PA;
- Tetraisopalmitato de ascorbila - VCIP<sup>®</sup> - Nikko Chemicals;
- Vitamina E (D-Alfa Tocoferol Acetato) DSM.

## 4.2. Equipamentos e acessórios

- Agitador mecânico, *Heidolph*<sup>®</sup>, RZR 2021;
- Balança eletrônica Marte, modelo AS 2000;
- Balança analítica Ohaus, modelo AS 200;
- Centrífuga CENTRIBIO, modelo 80-2B, frequência 60Hz;
- *Corneometer*<sup>®</sup> modelo SEM 575 (*Courage & Khazaka*);
- Chapa de aquecimento;
- *Cutometer*<sup>®</sup> modelo CM 825 (*Courage & Khazaka*);
- Embalagens plásticas de PVC opacas, com sistema de válvula *pump*, com capacidade para 30 gramas;
- Embalagens plásticas de PVC opacas, com capacidade para 15 gramas;
- Estufas termostatzadas com controle de umidade e fotoperíodo Eletrolab, modelo 111FC de 37°C e 45°C;
- Higrômetro, CE;
- Luminômetro Autolumat LB953 EG&G Berthold;
- Peagômetro, *Digimed*<sup>®</sup>, modelo DM 20;
- Purificador de água Milli Q;
- Reômetro modelo DV-III (tipo Cone & Placa), marca Brookfield, acoplado a *Software Rheocalc* versão V1. 01, Brookfield e um *spindle* CP 52;
- *Reviscometer*<sup>®</sup> RV600 (*Courage & Khazaka*);
- Termômetro;
- *Tewameter*<sup>®</sup> TM 210 (*Courage & Khazaka*);
- *Visioscan*<sup>®</sup> (*Courage & Khazaka*);
- Vidrarias em geral;

### 4.3. Avaliação da atividade antioxidante

A avaliação do potencial antioxidante do extrato de *Myrtus communis*, utilizado na elaboração das formulações objeto de estudo, foi realizada através do método de quimioluminescência dependente de luminol, cujo princípio baseia-se na detecção de fótons emitidos pelo luminol quando este é oxidado pelo peróxido de hidrogênio em presença de um catalisador, a enzima HRP (horseadish peroxidase). Com isso, o luminol no estado excitado, retorna ao estado fundamental emitindo fótons, os quais são, então, captados pelo equipamento (SANTOS; SANTOS, 1993). Quanto maior o sinal detectado pelo equipamento, maior a produção de radicais livres. Assim, a adição de uma substância antioxidante faz com que os radicais livres sejam neutralizados, resultando em uma menor emissão de fótons e, com isso, uma menor intensidade de sinal é detectada pelo equipamento. (CHENG et al., 2003).

Foram feitas diluições seriadas em DMSO (dimetilsulfóxido) do extrato hidrolisado de *Myrtus communis* (concentração final de 0,5% a 0,0019%), porém, a título de comparação, os resultados foram apresentados na concentração de 0,1%, na qual não se tem 100% de inibição para não ultrapassar o limiar de detecção do aparelho.

Alíquotas de 10 µL de soluções de dimetilsulfóxido (DMSO) contendo soluções diluídas (1:9) do extrato hidrolisado de *Myrtus communis* (concentração final de 0,1%) e de uma solução controle contendo apenas o DMSO (solvente), foram acrescidas de 400µL de tampão fosfato 0,1M (pH 7,4), 100µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 10µL de solução de luminol (5mg/mL). A reação foi iniciada pela adição de 500µL de solução (0,2 UI/mL) de HRP e a quimioluminescência foi quantificada utilizando-se o luminômetro Autolumat LB953 EG&G Berthold (MAIA CAMPOS et al., 2006; CHENG et al., 2003; LUCISANO-VALIM et al., 2002).

A tabela 1 representa as concentrações preparadas do extrato, bem como a concentração final obtida com a diluição no tubo de análise.

**Tabela 1.** Concentração do extrato de murta

Concentração inicial do extrato (mg/mL)	Concentração final do extrato (mg/mL)
8,00	0,08
31,0	0,31
40,0	0,40
63,0	0,63
100	1,00
125	1,25

Os resultados, obtidos em triplicata, foram expressos em área sob a curva (AUC), representando o total de radicais livres produzidos em 15 minutos a 30°C. Após isto, a porcentagem de inibição para o extrato foi calculada de acordo com a Equação 01 (GEORGETTI et al., 2003):

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

Sendo  $\text{AUC}_{\text{amostra}}$  = área sob a curva da amostra e  $\text{AUC}_{\text{controle}}$  = área sob a curva do controle.

Com o cálculo da porcentagem de inibição de cada solução, com diferentes concentrações de extrato, pôde-se encontrar a concentração de extrato que inibe 50% a produção de radicais livres ( $\text{IC}_{50}$ ).

#### 4.4. Desenvolvimento das formulações

As formulações objeto de estudo foram elaboradas levando em consideração o pH de estabilidade, a concentração de uso, as características sensoriais, a interação com as matérias-primas empregadas nas formulações cosméticas, bem como a compatibilidade com o extrato e vitaminas em estudo.

Foram preparadas formulações de géis-creme a base de polímero hidrofílico (polímero de acrilato) e microemulsão de silicone (Metilfenil polisiloxano), as quais foram preparadas em agitador Heidolph RZR 2021 a 625 rpm durante 20 minutos.

Inicialmente (primeira etapa do estudo), estas formulações foram acrescidas ou não, de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou pantenol na forma D-pantenol e estão descritas na Tabela 2.

**Tabela 2** - Formulações de géis-creme a base de polímero de acrilato e metilfenil polisiloxano elaboradas na primeira fase do estudo.

Matérias-primas	Concentração das matérias-primas % (p/p)			
	Form. nº 1	Form. nº 2	Form. nº 3	Form. Nº 4
Polímero de acrilato	0,80	0,80	0,80	0,80
Metilfenil polisiloxano.	4,00	4,00	4,00	4,00
Propilenoglicol	2,50	2,50	2,50	2,50
Glicerina	2,50	2,50	2,50	2,50
Metildibromoglutanonitrila e fenoxietanol	0,20	0,20	0,20	0,20
NaOH (sol 10%)	qs. pH 5,5-6,0	qs. pH 5,5-6,0	qs. pH 5,5-6,0	qs. pH 5,5-6,0
Água deionizada qsp.	100,00	100,00	100,00	100,0
Extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i>	-	4,00	-	4,00
D-pantenol	-	-	1,00	1,00

A seguir, na segunda etapa do estudo as formulações foram elaboradas, levando em consideração o pH de estabilidade a concentração de uso, as características sensoriais e a interação com as matérias-primas empregadas nas formulações cosméticas, tendo como base a formulação número 4 (F4), descrita na tabela 2, que foi selecionada para ser acrescida ainda de Tetraisopalmitato de ascorbila VCIP<sup>®</sup> e/ou Vitamina E (D-Alfa Tocoferol Acetato) (Tabela 3).

**Tabela 3** - Formulações de géis-creme a base de polímero de acrilato e metilfenil polisiloxano elaboradas na segunda fase do estudo.

Matérias-primas	Concentração das matérias-primas % (p/p)			
	Form. nº 4	Form. nº 5	Form. nº 6	Form. nº 7
Polímero de acrilato	0,80	0,80	0,80	0,80
Metilfenil polisiloxano.	4,00	4,00	4,00	4,00
Propilenoglicol	2,50	2,50	2,50	2,50
Glicerina	2,50	2,50	2,50	2,50
Metildibromoglutanonitrila e fenoxietanol	0,20	0,20	0,20	0,20
NaOH (sol 10%)	qs. pH 5,0-6,0	qs. pH 5,0-6,0	qs. pH 5,0-6,0	qs. pH 5,0-6,0
Água deionizada qsp.	100,0	100,0	100,0	100,0
Extrato hidrolisado de <i>Myrtus communis</i>	4,00	4,00	4,00	4,00
D-pantenol	1,00	1,00	1,00	1,00
Tetraisopalmitato de ascorbila	-	1,0	-	1,0
Vitamina E (D-Alfa Tocoferol Acetato)	-	-	2,0	2,0

#### 4.4.1. Testes preliminares de estabilidade

##### 4.4.1.1. Determinação do pH

A medida de pH das formulações objeto de estudo foi realizada em peagômetro Anlion, utilizando-se amostras diluídas em água destilada (1%) (MAIA CAMPOS; BADRA, 1992).

Para as formulações elaboradas na primeira etapa do estudo, as medidas de pH foram realizadas após 24 horas do preparo das mesmas, enquanto que para as formulações elaboradas na segunda fase do estudo as medidas de pH foram realizadas após 1, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias após o preparo das mesmas .

#### 4.4.1.2. Centrifugação

Neste teste preliminar de estabilidade, 5 gramas de cada formulação elaborada foram centrifugadas em 3 ciclos a 3000 rpm, por 30 minutos em centrífuga CENTRIBIO, modelo 80-2B, frequência 60Hz (MAIA CAMPOS; BADRA, 1992).

#### 4.4.1.3. Avaliação visual

Para a avaliação visual amostras das formulações objeto de estudo foram armazenadas no ambiente e submetidas a estresse térmico, em estufas Eletrolab, modelo III FC com controle de umidade (70% de UR) e temperatura (37°C e 45°C) e observadas visualmente diariamente, quanto a alterações do tipo: cor, separação de fases e homogeneidade, diariamente, por um período de 7 dias na primeira etapa do estudo e por um período de 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias na segunda etapa do estudo (MAIA CAMPOS; BADRA, 1992).

### 4.5. Estudo da estabilidade física por determinação do comportamento reológico

A avaliação da estabilidade física por determinação do comportamento reológico foi realizada em duas etapas.

Na primeira etapa do estudo as formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol), foram novamente preparadas 24 horas antes da primeira análise e acondicionadas em potes plásticos opacos com capacidade para 15g, sendo então armazenadas no ambiente e em estufas termostatizadas com controle de umidade e fotoperíodo, modelos 111FC (marca Eletrolab) a 37 e 45°C por um período de 28 dias. Em intervalos de tempo de 7 em 7 dias foram retiradas amostras das formulações que permaneceram por 24 horas em temperatura ambiente, para a determinação da viscosidade e do comportamento reológico.

Na segunda etapa do estudo as formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol), F5 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Tetraisopalmitato de ascorbila), F6 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Vitamina E) e F7 (veículo acrescido de

extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E), foram novamente preparadas 24 horas antes da primeira análise e acondicionadas em potes plásticos opacos com capacidade para 15g, sendo então armazenadas no ambiente e em estufas termostatizadas com controle de umidade e fotoperíodo, modelos 111FC (marca Eletrolab) a 37 e 45°C por um período de 90 dias. Em intervalos de tempo de 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias foram retiradas amostras das formulações que permaneceram por 24 horas em temperatura ambiente, para a determinação da viscosidade e do comportamento reológico.

Para a realização das duas etapas do estudo de determinação do comportamento reológico, foi utilizado um reômetro DV-III digital tipo Cone & Placa (marca BROOKFIELD), acoplado a um *Software Rheocalc* versão V1. 01, Brookfield, utilizando-se *spindle* CP52 e 0,5g de amostra. Todas as medidas foram efetuadas a 25°C (GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003b) e utilizando velocidade de rotação, progressivamente maiores (0,5 – 10 rpm), para se obter a curva ascendente. O procedimento foi repetido no sentido inverso com velocidades, progressivamente menores (10 – 0,5 rpm), para se obter a curva descendente.

A integração numérica das curvas dos reogramas assim obtidos foi realizada no *Software Microcal Origin* e a área sob a curva foi obtida para o cálculo da área de histerese (GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003b).

Através dos valores obtidos de viscosidade aparente, de acordo com a lei de Ostwald, foi possível determinar também os valores de índice de fluxo (SORIANO et al., 1996).

$$\sigma = K (\dot{\gamma})^n$$

Onde,

$\sigma$  = tensão de cisalhamento (D/cm<sup>2</sup>)

$\dot{\gamma}$  = gradiente de cisalhamento (1/Sec)

**K** = índice de consistência

**n** = índice de fluxo

Para melhor visualização das alterações sofridas pelas formulações ao longo do experimento, os valores de viscosidade, índice de consistência, índice de fluxo e tixotropia, foram plotados em gráficos com auxílio do *Software Prism*.



## ***5. CASUÍSTICA E MÉTODOS***

---

## 5.1. Casuística

Esta etapa teve início após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP - Protocolo nº 158 - CEP/FCFRP (Anexo A).

### 5.1.1. Aspectos éticos

As voluntárias foram esclarecidas e orientadas sobre os objetivos e métodos da pesquisa e concordaram em participar da mesma, lendo e assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B), elaborado segundo a declaração de Helsinque e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Resolução 196/96 do Ministério da Saúde, CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE, 1996).

### 5.1.2. População e Amostra/ Seleção dos voluntários

Foram selecionadas 60 voluntários, do sexo feminino, com peles de fototipo II, III e IV (PATHAK; FITZPATRICK, 1993), com idades entre 35 e 60 anos, sendo que 60 voluntárias participaram das avaliações de eficácia clínica realizadas na primeira fase do estudo e 10 voluntárias participaram das avaliações de eficácia clínica realizadas na segunda etapa do estudo.

**Quadro 1** - Fototipos cutâneos (PATHAK; FITZPATRICK, 1993).

<b>Fototipos</b>	<b>Descrição</b>	<b>Sensibilidade ao Sol</b>
<b>I - Branca</b>	Queima com facilidade, nunca bronzeia	Muito sensível
<b>II - Branca</b>	Queima com facilidade, bronzeia muito pouco	Sensível
<b>III - Morena Clara</b>	Queima moderadamente, bronzeia moderadamente	Normal
<b>IV – Morena Moderada</b>	Queima pouco, bronzeia com facilidade	Normal
<b>V – Morena Escura</b>	Queima raramente, bronzeia bastante	Pouco sensível
<b>VI - Negra</b>	Nunca queima, totalmente pigmentada	Insensível

Para a seleção dessas voluntárias, foram considerados os seguintes critérios de exclusão: gravidez ou aleitamento; indivíduos com história anterior de reações adversas com o uso de produtos cosméticos; indivíduos em uso de medicamentos passíveis de produzir resposta cutânea anormal; doenças dermatológicas localizadas ou generalizadas e excesso de pêlos nas regiões de estudo.

## **5.2. Avaliação primária da compatibilidade cutânea**

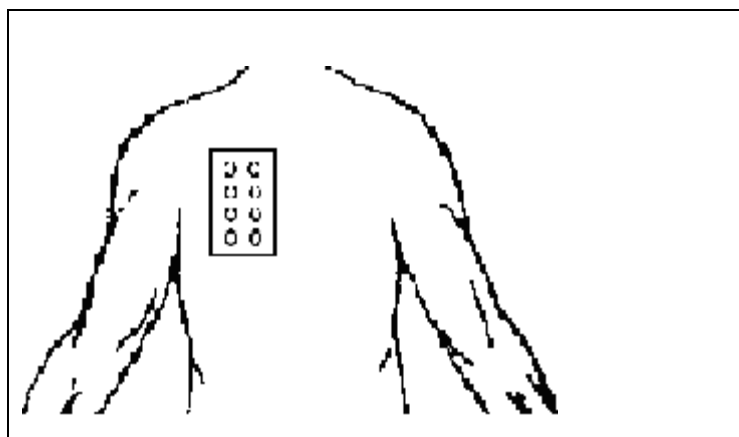
Esta avaliação foi iniciada após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos Hospital Leonor Mendes de Barros (Protocolo CEP nº148/06), tendo sido realizado em parceria com o Instituto de Bioengenharia da Pele EVIC Brasil Ltda, com o objetivo de obter um melhor conhecimento da compatibilidade cutânea dos produtos testados e uma minimização e controle dos riscos previsíveis incorridos pelos voluntários participantes.

Para essa avaliação, foram selecionados 23 voluntários de fototipo I a IV (PATHAK; FITZPATRICK, 1993), com idades entre 18 e 60 anos. Para a seleção desses voluntários, foram considerados os seguintes critérios de exclusão:

- marcas cutâneas na área experimental que pudessem interferir na avaliação das reações cutâneas (problemas de pigmentação, elementos de cicatrizes, pilosidade super desenvolvida, queimaduras solares, etc);
- reação eczematosa ainda visível, cicatriz ou seqüela de pigmentação sobre a área experimental referentes a estudos anteriores;
- alergia ao níquel; alergia ou reatividade para a categoria do produto estudado;
- dermatografismo;
- hiper-reatividade cutânea;
- atopia;
- alergia a esparadrapo;
- exposição intensiva ao sol nos meses precedentes ao início do estudo;
- previsão de exposição intensiva ao sol ou exposição UVA (lâmpadas UV) durante o período do estudo;
- previsão de banho de piscina, mar ou banheira e sessões de sauna ou bronzamento durante a realização do estudo;

- tratamento com vitamina A ácida e/ou seus derivados nos três meses antecedentes ao início do estudo;
- tratamento tópico com corticóides na área experimental até oito dias antes do início do estudo;
- tratamento com radiação UVA ou UVB até um mês antes do início do estudo; gravidez ou lactação;
- previsão de vacinação durante a realização do estudo ou vacinação até três semanas antes do estudo;
- tratamento com medicamentos anti-inflamatórios ou antialérgicos há 15 dias antes do estudo.

A avaliação foi realizada utilizando-se o teste de irritação cutânea primária, ou seja, o teste de contato (patch test) que consiste na aplicação do produto de forma oclusiva. Nesta avaliação, 20µL das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol), F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E), foram aplicados de maneira randomizada sobre cúpulas de alumínio com área de 50 mm<sup>2</sup> (FINN CHAMBER<sup>®</sup>) colados por uma fita adesiva hipoalergênica, que foi fixada na área dorsal dos voluntários (Figura 5). Foi reservada uma outra área experimental em que não foi aplicado nenhum produto, para ser utilizada como controle. Além disso, um apósito controle, correspondente ao tipo de apósito utilizado no estudo, contendo soro fisiológico foi aplicado concomitantemente aos apósitos com o produto teste.



**Figura 5.** Aplicação do patch no dorso dos voluntários.

Após aproximadamente 48 horas, o teste de contato foi removido da pele e a avaliação visual do resultado foi efetuada após regressão do eritema ocasionado pela retirada da fita adesiva, ou seja, após aproximadamente 30 minutos da remoção do apósito. A avaliação foi realizada de acordo com o Quadro 2 que estabelece a escala definida pelo ICDRG (International Contact Dermatitis Research Group) (FISCHER, 1995; MARZULLI; MAIBACH, 1976).

**Quadro 2** - Critérios de avaliação de teste de contato propostos pelo ICDRG

<b>REAÇÃO</b>	<b>RESULTADO</b>
0 – Ausente	Negativo (-)
1 - Eritema leve	Duvidoso (?)
2 - Eritema nítido	Positivo (+)
3 - Eritema + edema + pápulas	Positivo (++)
4 - Eritema + edema + pápulas + vesículas	Positivo (+++)

### 5.3. Avaliação da eficácia clínica das formulações objeto de estudo

#### 5.3.1. Avaliação Sensorial

Neste estudo as voluntárias aplicaram uma quantidade padronizada (200mg) das formulações contendo ou não extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol, em regiões distintas na porção inferior média dos antebraços, e em seguida receberam uma ficha de avaliação sensorial onde as voluntárias responderam as questões atribuindo notas, de acordo com os parâmetros de qualidade fornecidos pela ficha de avaliação sensorial (ANCONI et al., 2004).

## FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

... responda a avaliação abaixo utilizando os seguintes parâmetros de qualidade:

1 = péssimo; 2 = ruim; 3 = regular; 4 = bom; 5 = excelente

### Características

### Qualidade

### Formulações

Sensação ao toque e pegajosidade  
Espalhabilidade e aparência da pele  
Sensação da pele imediatamente após aplicação  
Sensação da pele após 5 minutos  
Hidratação  
Textura da pele

F1	F2	F3	F4

Nome \_\_\_\_\_

### 5.3.2. Avaliação por técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele

O estudo de avaliação da eficácia clínica das formulações objeto de estudo, foi realizado em duas etapas.

#### 5.3.2.1. Primeira etapa dos estudos de avaliação por técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele

Na primeira etapa do estudo foram avaliados os efeitos após uma única aplicação e em longo prazo das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) na avaliação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda transepidérmica de água, do micro-relevo cutâneo, da anisotropia da pele e do índice de eritema.

### 5.3.2.1.1. Avaliação dos efeitos das formulações após uma única aplicação

A região escolhida para a realização dos estudos dos efeitos imediatos das formulações objeto de estudo foi à porção inferior média dos antebraços e da face (região periocular), de 40 voluntárias previamente selecionadas.

As voluntárias foram submetidas aos testes de avaliação de eficácia, os quais foram iniciados a partir de 30 minutos de aclimação em ambiente com temperatura e umidade relativa do ar controlado, 20 - 22°C e 45 - 55%, respectivamente (DAL' BELO; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2006).

As medidas foram feitas no tempo inicial, para a obtenção dos valores basais e após 3 horas da aplicação das formulações para a avaliação dos efeitos imediatos.

Para a avaliação dos efeitos imediatos, o antebraço direito das voluntárias foram subdivididos em duas regiões (36 cm<sup>2</sup>), onde foram aplicadas, a formulação nº1 (veículo) e a formulação nº 2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*). O antebraço esquerdo também foi subdividido em duas regiões (36 cm<sup>2</sup>), onde foram aplicadas, a formulação nº 3 (veículo acrescido de D-pantenol) e a formulação nº 4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

Para a avaliação da região da face, as voluntárias foram divididas em dois grupos, que tiveram a região da face subdividida em duas regiões, onde em um grupo foram aplicadas no lado direito a formulação nº1 (veículo) e no lado esquerdo a formulação nº2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*). No outro grupo, as voluntárias também tiveram suas faces subdivididas e duas regiões, onde no lado direito foi aplicado à formulação nº 3 (veículo acrescido de D-pantenol) e no lado esquerdo a formulação nº 4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol). Essas regiões e formulações aplicadas foram randomizadas entre as voluntárias a fim de minimizar as diferenças entre as análises (DAL' BELO; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2006).

### 5.3.2.1.2. Avaliação dos efeitos das formulações em longo prazo

Para realização do estudo em longo prazo, 40 voluntárias levaram para suas casas duas formulações das quatro estudadas, uma foi aplicada em um dos antebraços e a outra foi aplicada no outro antebraço e na face, duas vezes ao dia, por um período de 30 dias. As

formulações objeto de estudo foram fornecidas às voluntárias de forma randomizada, a fim de minimizar as diferenças entre as análises. Após 15 e 30 dias as voluntárias retornaram à sala de ensaios clínicos no Laboratório de Tecnologia de Cosméticos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, para realização de novas medidas conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda transepidermica de água, do micro-relevo cutâneo, da anisotropia da pele e do índice de eritema, as quais foram iniciadas a partir de 30 minutos de aclimatação em ambiente com temperatura e umidade relativa do ar controlado, 20 - 22°C e 45 - 55%, respectivamente (DAL' BELO; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2006).

A fim de evitar erros durante a aplicação das formulações pelas voluntárias, estas foram instruídas adequadamente em termos de quantidade a ser aplicada de cada formulação na sua região específica.

### **5.3.2.2. Segunda etapa dos estudos de avaliação por técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele**

Na segunda etapa do estudo foram avaliados os efeitos em longo prazo das formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E) na avaliação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda transepidermica de água, do micro-relevo cutâneo e das propriedades viscoelásticas.

#### **5.3.2.2.1. Avaliação dos efeitos das formulações em longo prazo**

A região escolhida para a realização do estudo das formulações objeto de estudo foi à porção inferior média dos antebraços de 10 voluntárias previamente selecionadas.

As voluntárias foram submetidas aos testes de eficácia, os quais foram iniciados a partir de 20 minutos de aclimatação em ambiente com temperatura e umidade relativa do ar controlado, 20 - 22°C e 45 - 55%, respectivamente (DAL' BELO; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2006).

Para realização do estudo em longo prazo, as voluntárias levaram para suas casas as formulações objeto de estudo, onde a formulação F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) foi aplicada em um dos antebraços e a formulação F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E) foi aplicada no outro antebraço, duas vezes ao dia, por um período de 15 dias.



A aplicação das formulações objeto de estudo foram randomizadas entre os antebraço, a fim de minimizar as diferenças entre as análises. Após 15 dias as voluntárias retornaram à sala de ensaios clínicos no Laboratório de Tecnologia de Cosméticos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, para realização de novas medidas do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda transepidermica de água, do micro-relevo cutâneo e das propriedades viscoelásticas.

Uma região de (25 cm<sup>2</sup>) dos antebraços das voluntárias foi mantida durante o período de estudo, sem receber a aplicação das formulações objetos de estudo para servir de região controle.

A fim de evitar erros durante a aplicação das formulações pelas voluntárias, estas foram instruídas adequadamente em termos de quantidade a ser aplicada de cada formulação na sua região específica.

Para a avaliação da eficácia clínica das formulações objeto de estudo, foram utilizados os métodos descritos a seguir.

#### **5.3.2.3. Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo**

Para a realização deste estudo foi utilizado o equipamento Corneometer<sup>®</sup> CM 825, acoplado a um software, que mede o conteúdo aquoso do estrato córneo, baseado no princípio da medida da capacitância elétrica, ou seja, na variação da constante dielétrica da água. Os resultados são fornecidos em unidades arbitrárias (UA) onde se estima que 1 UA corresponda a 0,2 - 0,9 mg de água por grama de estrato córneo. Foram efetuadas 10 medições em cada região dos antebraços e da face das voluntárias, sendo calculada a média dos valores obtidos. O número de medições realizadas foi determinado conforme o tamanho da região estudada, de tal forma a garantir que todo o local fosse avaliado (DAL' BELO; GASPARG; MAIA CAMPOS, 2006).

#### **5.3.2.4. Determinação da perda transepidermica de água**

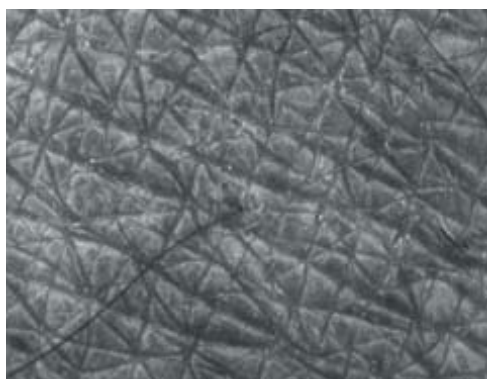
Para a realização deste estudo foi utilizado o equipamento Tewameter<sup>®</sup> TM 210, acoplado a um software, cuja função é medir a perda transepidermica de água, baseado no princípio de difusão descrito por Adolf Fick em 1885:

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

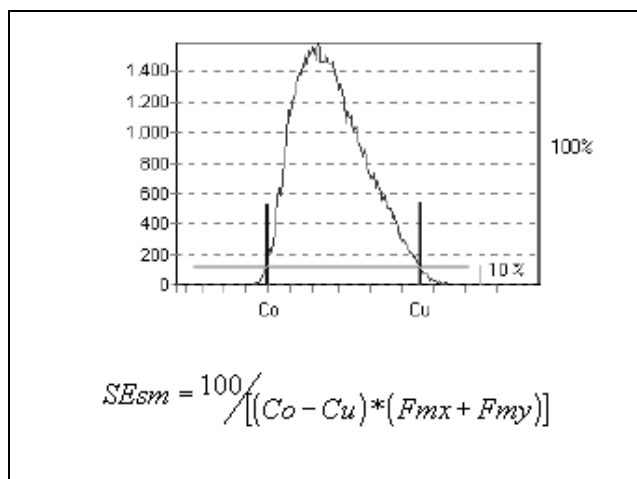
Onde,  $dm/dt$  é o fluxo de difusão,  $A$  é a área,  $dc/dx$  é a alteração de concentração por distância e  $D$  é o coeficiente de difusão do vapor de água no ar. Os valores são dados em  $g.m^{-2}.h^{-1}$ . A sonda do aparelho permaneceu por 2 minutos sobre a pele nas regiões dos antebraços, e o valor médio das 9 medidas obtidas neste intervalo de tempo foi empregado nos cálculos posteriores (GIOIA; CELLENO, 2002; ROGIERS, 2001; NANGIA et al., 1998).

### 5.3.2.5. Determinação do micro-relevo cutâneo

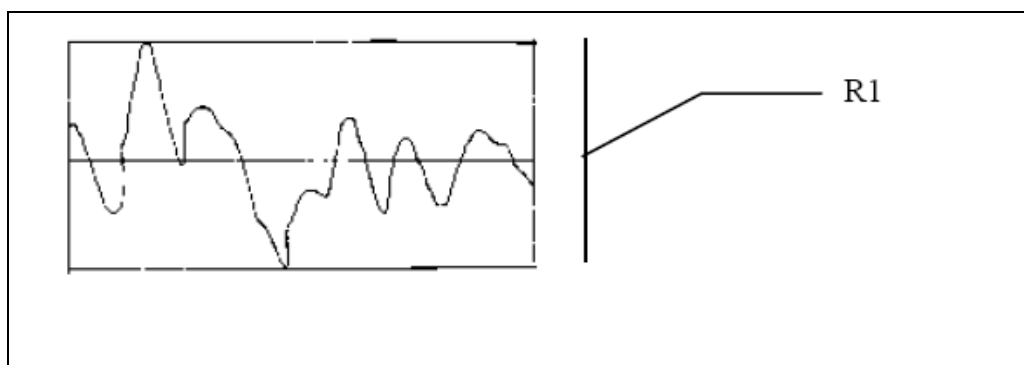
Neste estudo foi utilizado o equipamento Visioscan<sup>®</sup> VC 98, o qual permite a avaliação quali e quantitativa da superfície da pele nas condições fisiológicas, por meio de técnicas de profilometria óptica, as quais utilizam um processo de digitalização de imagem obtida por uma câmera de vídeo equipada com uma unidade que emite luz ultravioleta e capta uma imagem da pele digitalizada 256 níveis de cinza, ponto a ponto, onde 0 equivale ao preto e 255 ao branco (Figura 6). O programa fornece um histograma que apresenta uma distribuição de diferentes níveis de cinza, quantificando os pontos escuros, que correspondem à rugosidade e pontos claros correspondentes aos platôs do micro-relevo cutâneo. Com este método são avaliados os seguintes parâmetros relacionados à superfície da pele (SELS - Surface Evaluation of Living Skin): rugosidade ( $Se_r$ ) - porção de pontos escuros que representam as rugas;  $Se_w$  - número e largura das rugas, sendo que quanto maior número de rugas maior é este valor;  $Se_{sm}$  refere-se à forma e largura das rugas, sendo que quanto maior o valor dessa variável melhor a textura e maciez da pele (Figura 7). Avalia-se ainda o parâmetro  $Rt$  (rugosidade) (Figura 8), relacionado à profundidade das rugas (KOH et al., 2002; DE PAEPE et al., 2000).



**Figura 6.** Imagem digitalizada da pele obtida por uma câmera de vídeo - Visioscan<sup>®</sup> VC 98.



**Figura 7.** Cálculo do parâmetro  $Se_{sm}$  (média da largura das rugas), onde  $Co$ ,  $Cu$  = limites de  $Se_{sm}$  como a porcentagem do máximo do histograma e  $Fm$  = média da largura das rugas nas direções vertical e horizontal.



**Figura 8.** Cálculo do parâmetro  $Rt$ , distância entre o valor mais alto (pico) e o mais baixo (vale).

### 5.3.2.6. Determinação das propriedades mecânicas da pele por análise das características anisotrópicas

Para tal avaliação foi utilizado o equipamento *Reviscometer*<sup>®</sup> *RV600*, o qual determina o tempo necessário para uma onda de ultra-som percorrer uma determinada distância através da pele (RRTM - *Resonance running time measurements*). Este tempo está relacionado com a direção das fibras de colágeno e elastina na pele. A sonda do ultra-som foi colocada sobre a pele das voluntárias, em diferentes posições, sendo que os sensores foram alinhados em diferentes ângulos:  $0^\circ / 180^\circ$ ,  $45^\circ / 225^\circ$ ,  $90^\circ / 270^\circ$ ,  $135^\circ / 315^\circ$ . Com este equipamento, foi determinada anisotropia da pele ( $RRTM_{m\acute{a}x} / RRTM_{m\acute{i}n}$ ). Quanto mais próximo de 1 a anisotropia da pele, menor a desorganização das fibras de colágeno e elastina, o que reflete no

aumento da firmeza da pele (RUVOLO; STAMATAS; KOLLIAS, 2007; UHODA et al., 2002).

#### **5.3.2.7. Determinação das propriedades mecânicas da pele por análise da viscoelásticidade da pele**

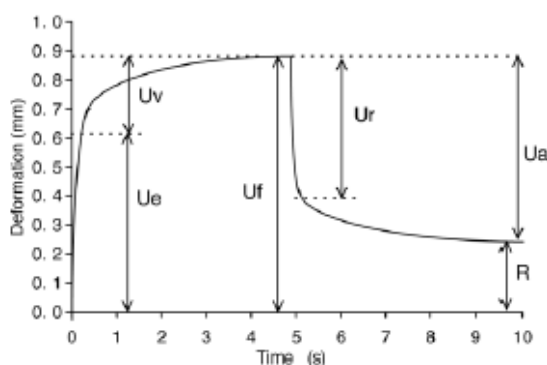
Para a avaliação das propriedades viscoelásticas da pele foi utilizado o aparelho Cutometer SEM 575, equipado com uma sonda que possui um orifício com 2 mm de diâmetro, que mede a deformação da pele em resposta à sucção, ou seja, a pressão negativa que é criada pelo dispositivo de leitura provoca sensível penetração da pele no orifício e o nível de penetração obtido é determinado por um sistema de leitura ótico, no qual a intensidade de luminosidade captada é proporcional à penetração da pele no dispositivo (DOBREV, 2000).

Este equipamento é acoplado a um software, com 4 módulos de leitura, que contém fórmulas para calcular as variáveis que podem ser estudadas e são apresentados na tela do computador e gravados juntamente com o gráfico obtido. Em nossos estudos utilizamos o módulo 1, o qual produz uma rápida sucção da pele, seguido de interrupção da sucção, sendo a pressão empregada de 450mbar. Cada leitura foi realizada utilizando-se 5 ciclos consecutivos de sucção.

Os resultados fornecidos pelo equipamento (Quadro 3) são calculados a partir do gráfico apresentado na Figura 9. Neste estudo, foram analisados os valores de viscoelasticidade cutânea (R6) e elasticidade biológica (R7).

**Quadro 3** - Variáveis fornecidas pelo equipamento Cutometer SEM 575 e seus significados

Variáveis	Significado
$R0 = UF$	Amplitude Máxima, ponto mais elevado da curva (Firmeza da pele).
$R1 = R$	Amplitude Mínima.
$R2 = Ua/Uf$	Parte situada entre a amplitude máxima e a capacidade de recuperação da pele (elasticidade bruta). Quanto mais perto o valor estiver de 1 (100%), mais elástica é a curva.
$R3$	É a última amplitude máxima.
$R4$	É a última amplitude mínima.
$R5 = Ur/Ue$	Elasticidade líquida. Quanto mais perto o valor estiver de 1 (100%), maior é a elasticidade.
$R6 = Uv/Ue$	Razão entre a viscoelasticidade cutânea e a distensão imediata.
$R7 = Ur/Uf$	Elasticidade biológica. Habilidade da pele em retornar à sua posição inicial, após deformação.
$R8$	Área acima da curva, dada por $Uf$ e pelo tempo de sucção. Quanto menor o valor, mais elástica é a curva.

**Figura 9.** Curva de deformação da pele obtida pelo equipamento Cutometer SEM 575 (DOBREV, 2000).

Legenda:  $Ue$ : distensão imediata  
 $Uv$ : distensão retardada  
 $Ur$ : retração imediata  
 $Uf$ : distensão final  
 $R$ : deformação residual no fim do ciclo de medida

### 5.3.2.8. Determinação do índice de eritema

O índice de eritema foi medido, utilizando o equipamento Mexameter<sup>®</sup> MX16. Foram efetuadas 3 medidas em cada região avaliada, e a média destes valores foi utilizada para as análises posteriores. O índice de eritema está relacionado com o conteúdo de hemoglobina na pele, baseado no princípio da absorção. O Mexameter<sup>®</sup> apresenta uma sonda que emite luz em três comprimentos de onda pré-definidos e um receptor que mede a luz refletida, podendo-se assim, calcular a luz absorvida pela pele. O eritema é medido por dois comprimentos de onda diferentes, um deles corresponde ao pico de absorção da hemoglobina, o outro foi escolhido para evitar influência de outras cores, como por exemplo, a bilirrubina. Os resultados são exibidos pelo aparelho como E: valores de eritema.

Os índices de eritema (E) são calculados como:

$$E: 500/\log 5 \times (\log \text{reflexão vermelho}/ \text{reflexão verde} + \log 5).$$

Este princípio de medida do eritema é descrito por Fullerton et al. (1996) e Lahti et al. (1993), entre outros.

### 5.3.3. Análise estatística

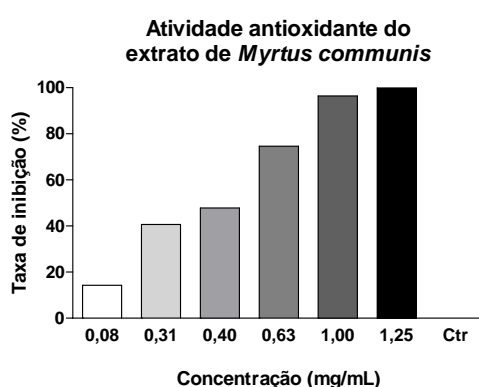
Os dados experimentais obtidos na avaliação sensorial e nas duas fases da avaliação de eficácia dos efeitos das formulações na pele humana após uma única aplicação e em longo prazo (conteúdo aquoso do estrato córneo, perda de água transepidérmica, micro-relevo cutâneo, anisotropia da pele, propriedades viscoelásticas e índice de eritema) foram submetidos à análise de normalidade da distribuição amostral, sendo selecionado o teste paramétrico Análise de Variância, seguido pelo teste complementar de Tukey, o selecionado para a realização das análises em estudo. Os testes acima referidos foram realizados por meio de software estatístico MINITAB.

## ***6. RESULTADOS***

---

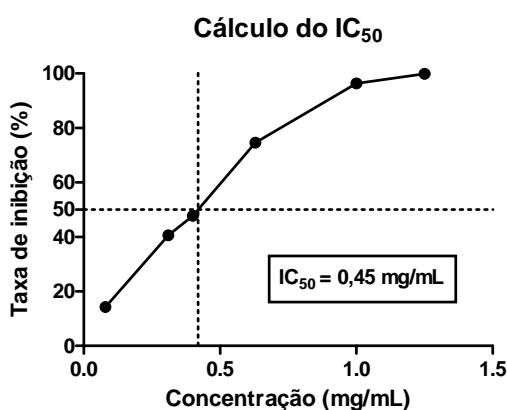
## 6.1. Avaliação da atividade antioxidante

Os dados obtidos no estudo do potencial antioxidante in vitro demonstraram que, comparado ao controle, o extrato vegetal em estudo possui uma considerável atividade antioxidante (figura 10). Plotando o gráfico de porcentagem de inibição da formação dos radicais livres em função da concentração do extrato, pôde-se calcular o  $IC_{50}$ , igual a 0,45 mg/mL, representado na figura 11.



**Figura 10.** Avaliação do potencial antioxidante do extrato hidrolisado de *Myrtus communis* pelo método de quimioluminescência dependente de luminol- $H_2O_2$ -HRP

Ctr - controle



**Figura 11.** Concentração do extrato hidrolisado de *Myrtus communis* que inibe 50% da formação de radicais livres ( $IC_{50}$ ).



## 6.2. Testes preliminares de estabilidade

### 6.2.1. Determinação do pH

Os valores de pH obtidos para as formulações elaboradas na primeira etapa do estudo encontram-se na Tabela 4, onde se pode observar que praticamente todas as formulações apresentaram pH levemente ácido, na faixa de 5,9 e 6,1.

**Tabela 4** - Valores de pH das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) após 24 horas do preparo das mesmas.

pH			
F1	F2	F3	F4
6,0	6,1	6,0	5,9

Os valores de pH obtidos para as formulações elaboradas na segunda etapa do estudo encontram-se na Tabela 5, onde se pode observar que praticamente todas as formulações apresentaram pH levemente ácido, na faixa de 5,78 e 5,16 .

**Tabela 5** - Valores de pH das formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol), F5 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Tetraisorpalmitato de ascorbila), F6 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Vitamina E) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisorpalmitato de ascorbila e Vitamina E) após 1, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias do preparo das mesmas, armazenadas no ambiente e a 45°C.

Tempos de estudo	Valores de pH							
	Ambiente				45°C			
	F4	F5	F6	F7	F4	F5	F6	F7
24 horas	5,65	5,54	5,60	5,34	-	-	-	-
7 dias	5,42	5,49	5,51	5,23	5,59	5,57	5,57	5,29
14 dias	5,55	5,38	5,56	5,34	5,59	5,29	5,57	5,37
21 dias	5,42	5,46	5,48	5,27	5,67	5,21	5,47	5,20
28 dias	5,43	5,33	5,61	5,30	5,78	5,17	5,56	5,28
60 dias	5,41	5,27	5,63	5,40	5,71	5,31	5,63	5,16
90 dias	5,32	5,32	5,47	5,37	5,58	5,19	5,52	5,34

### 6.2.2. Centrifugação

As formulações objeto de estudo não apresentaram separação de fases frente ao teste de centrifugação, sendo todas consideradas estáveis e assim, submetidas ao teste de estabilidade acelerado por estresse térmico, onde foram analisadas suas características macroscópicas.

### 6.2.3. Avaliação visual

As formulações objeto de estudo mostraram-se estáveis frente a este teste, pois não foram observadas alterações do tipo: cor, odor ou separação de fases e homogeneidade após estocagem no ambiente e a  $37 \pm 1$  e  $45 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante os períodos de estudo.

## 6.3. Estudo da estabilidade física por determinação do comportamento reológico

A avaliação da estabilidade física por determinação do comportamento reológico das formulações objeto de estudo foi realizada em duas etapas.

Na primeira etapa da avaliação do comportamento reológico das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) pode ser avaliado por meio dos reogramas (Figuras 12 a 23), dos valores de viscosidade aparente mínima (Tabela 6 e Figuras 24 a 26), de índice de consistência (Tabela 7 e Figuras 27 a 29) e de índice de fluxo, (Tabela 8 e Figuras 30 a 32), obtidos ao longo do período de 28 dias.

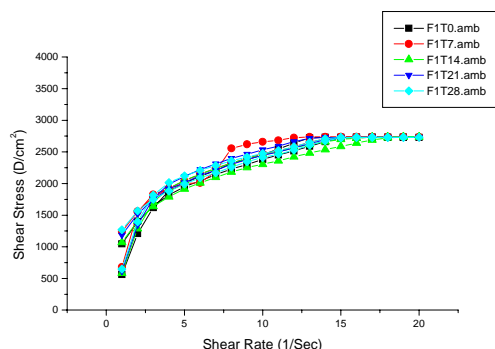
Durante o período de análise, os reogramas das formulações objeto de estudo não apresentaram alterações, tais como picos de instabilidade (Figuras 12 a 23). As formulações de nº 1 (veículo) e nº 3 (veículo acrescido de D-pantenol) apresentaram os maiores valores de viscosidade aparente mínima (calculados a partir do ponto máximo de cisalhamento), e não apresentaram muitas oscilações no decorrer do estudo. Já as formulações nº 2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*) e nº 4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) apresentaram valores menores de viscosidade aparente mínima e um número maior de oscilações desses valores, quando comparadas com

as formulações de nº 1 e 3 que não foram acrescidas de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* (Tabela 6 e Figuras 23 a 26).

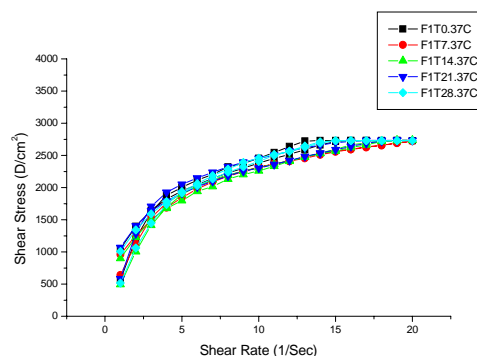
Em relação ao índice de consistência, as formulações apresentaram resultados semelhantes aos obtidos na avaliação da viscosidade aparente mínima, as formulações de nº 1 (veículo) e nº 3 (veículo acrescido de D-pantenol), apresentaram os maiores valores de índice de consistência e as formulações nº 2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*) e nº 4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) apresentaram valores menores de índice de consistência, e as formulações que foram armazenadas a 45°C, apresentaram maiores oscilações (Tabela 7 e Figuras 27 a 29).

Todas as formulações estudadas apresentaram comportamento pseudoplástico, ou seja, índice de fluxo menor que 1, e as formulações estudadas não apresentaram grandes oscilações nos valores de índice de fluxo (Tabela 5 e Figuras 24 a 26).

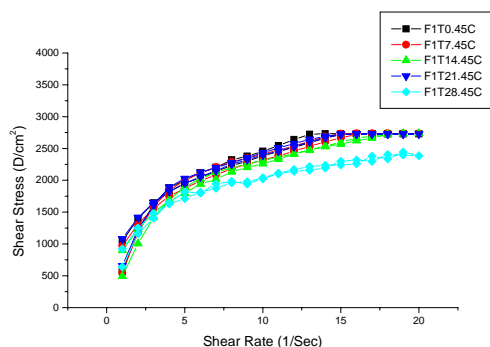
Assim, ao avaliar o conjunto de variáveis que fazem parte do estudo do comportamento reológico (perfil dos reogramas, valores de viscosidade aparente, índice de fluxo e índice de consistência), todas as formulações objeto de estudo foram consideradas estáveis, pois não apresentaram grandes oscilações nos parâmetros analisados e foram então selecionadas para os estudos posteriores.



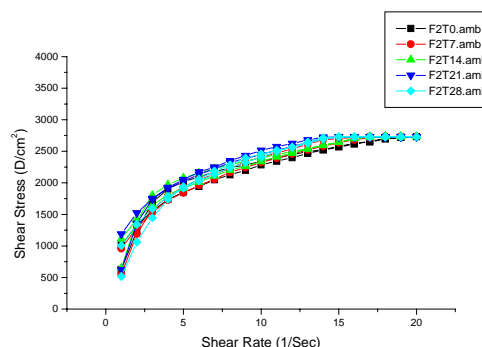
**Figura 12:** Formulação de nº 1 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada no ambiente.



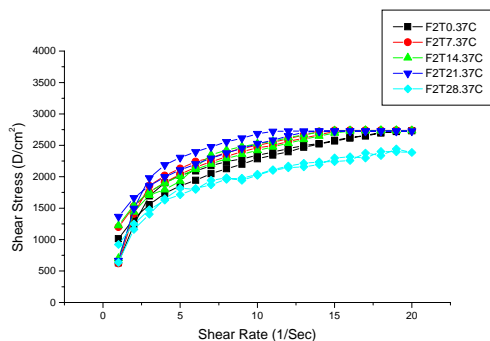
**Figura 13:** Formulação de nº 1 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 37°C.



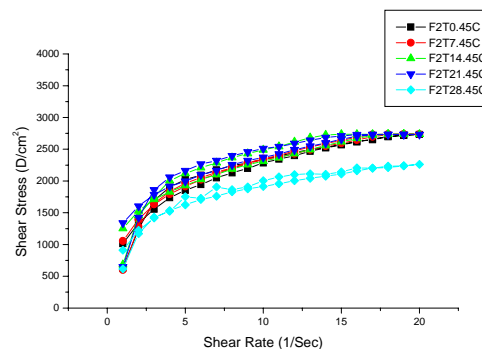
**Figura 14:** Formulação de nº 1 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 45°C.



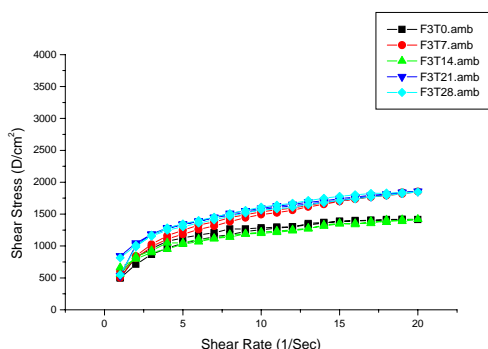
**Figura 15:** Formulação de nº 2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada no ambiente.



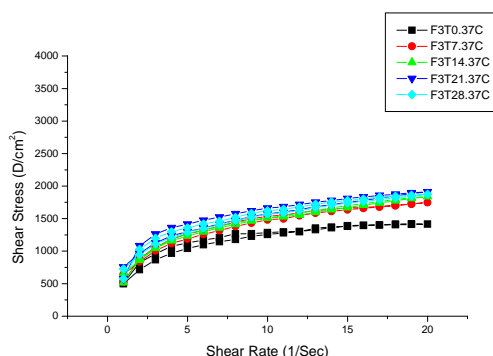
**Figura 16:** Formulação de nº 2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 37°C.



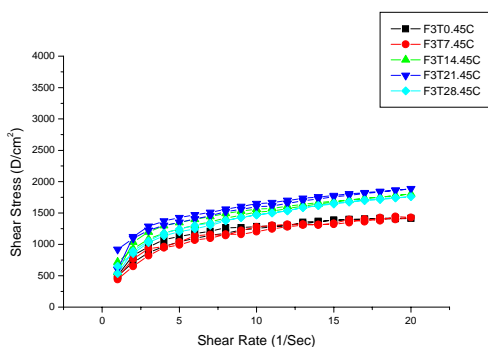
**Figura 17:** Formulação de nº 2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 45°C.



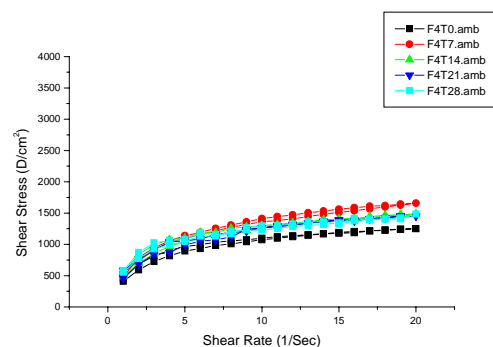
**Figura 18:** Formulação de nº 3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada no ambiente.



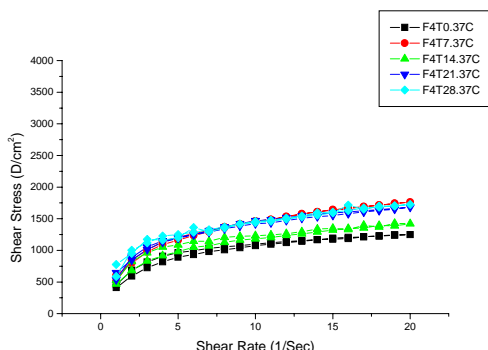
**Figura 19:** Formulação de nº 3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 37°C.



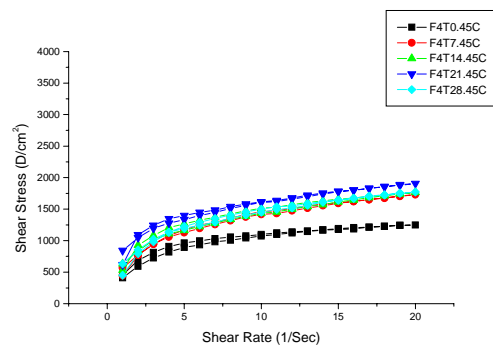
**Figura 20:** Formulação de nº 3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 45°C.



**Figura 21:** Formulação de nº 4 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada no ambiente.



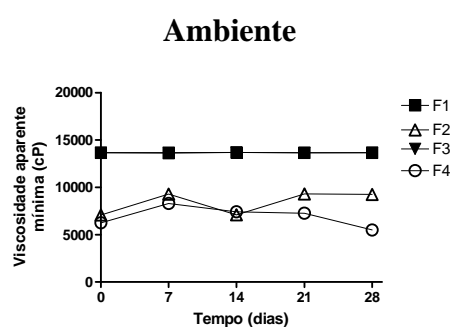
**Figura 22:** Formulação de nº 4 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 37°C.



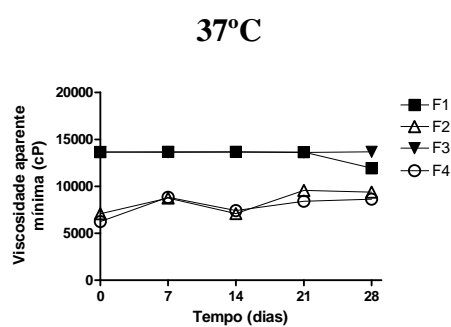
**Figura 23:** Formulação de nº 4 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias armazenada a 45°C.

**Tabela 6** - Valores de viscosidade aparente mínima (cP) das formulações estudadas (F1, F2, F3 e F4) nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C. Valores calculados no ponto máximo de cisalhamento.

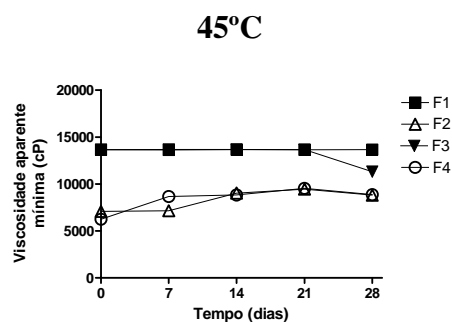
Formulações	VISCOSIDADE APARENTE (cP)				
	Ambiente				
	T0	T7	T14	T21	T28
<b>F1</b>	13644	13604	13673	13634	13644
<b>F2</b>	7077	9269	7097	9289	9240
<b>F3</b>	13653	13664	13643	13634	13653
<b>F4</b>	6242	8296	7411	7254	5484
<b>37°C</b>					
<b>F1</b>	13644	13683	13673	13634	11933
<b>F2</b>	7077	8738	9191	9554	9377
<b>F3</b>	13653	13623	13673	13614	13673
<b>F4</b>	6242	8817	7107	8404	8630
<b>45°C</b>					
<b>F1</b>	13644	13683	13663	13644	13653
<b>F2</b>	7077	7146	9023	9436	8807
<b>F3</b>	13653	13623	13673	13653	11304
<b>F4</b>	6242	8650	8827	9525	8856



**Figura 24:** Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.



**Figura 25:** Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.

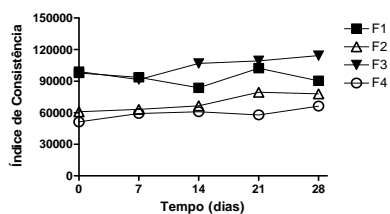


**Figura 26:** Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.

**Tabela 7 -** Valores de índice de consistência das formulações estudadas (F1, F2, F3 e F4) nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C.

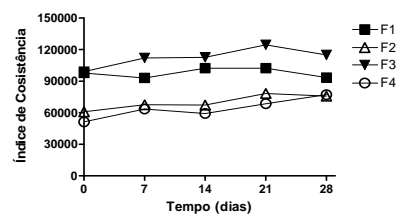
Formulações	ÍNDICE DE CONSISTÊNCIA				
	Ambiente				
	T0	T7	T14	T21	T28
<b>F1</b>	97863	93713	83673	102362	90294
<b>F2</b>	60979	63209	66513	79446	77877
<b>F3</b>	99070	91542	106840	109316	114275
<b>F4</b>	51308	59325	60997	57992	66297
<b>37°C</b>					
<b>F1</b>	97863	93107	102329	102362	93376
<b>F2</b>	60979	67596	67256	78371	75858
<b>F3</b>	99070	112004	112710	124555	114982
<b>F4</b>	51308	63575	59344	68607	77203
<b>45°C</b>					
<b>F1</b>	97863	115330	101172	109566	113518
<b>F2</b>	60979	55512	75622	86883	68028
<b>F3</b>	99070	99751	113042	117009	92174
<b>F4</b>	51308	59054	99751	83373	63245

## Ambiente



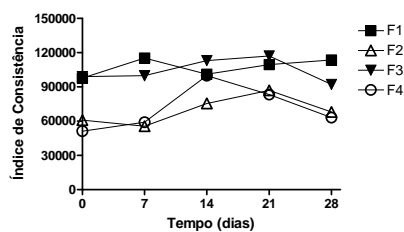
**Figura 27:** Índice de Consistência das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.

## 37°C



**Figura 28:** Índice de Consistência das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.

## 45°C

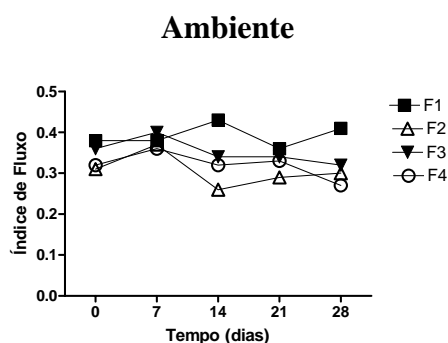


**Figura 29:** Índice de Consistência das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.

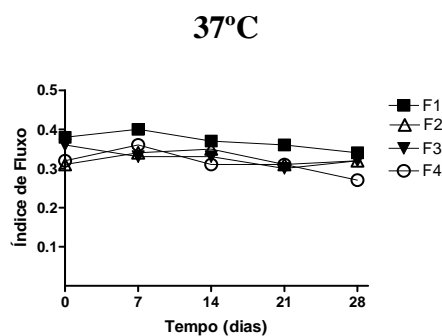


**Tabela 8** - Valores de índice de fluxo das formulações estudadas (F1, F2, F3 e F4) nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C.

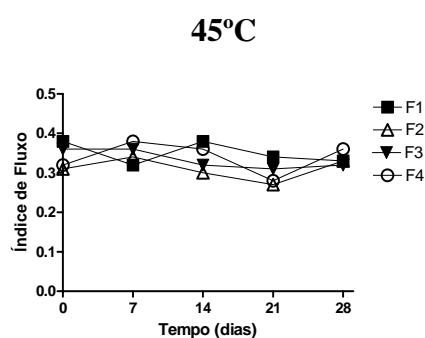
Formulações	ÍNDICE DE FLUXO				
	Ambiente				
	T0	T7	T14	T21	T28
<b>F1</b>	0,38	0,38	0,43	0,36	0,41
<b>F2</b>	0,31	0,37	0,26	0,29	0,30
<b>F3</b>	0,36	0,40	0,34	0,34	0,32
<b>F4</b>	0,32	0,36	0,32	0,33	0,27
<b>37°C</b>					
<b>F1</b>	0,38	0,40	0,37	0,36	0,34
<b>F2</b>	0,31	0,34	0,35	0,31	0,32
<b>F3</b>	0,36	0,33	0,33	0,30	0,32
<b>F4</b>	0,32	0,36	0,31	0,31	0,27
<b>45°C</b>					
<b>F1</b>	0,38	0,32	0,38	0,34	0,33
<b>F2</b>	0,31	0,34	0,30	0,27	0,33
<b>F3</b>	0,36	0,36	0,32	0,31	0,32
<b>F4</b>	0,32	0,38	0,36	0,28	0,36



**Figura 30:** Índice de Fluxo das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.



**Figura 31:** Índice de Fluxo das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.



**Figura 32:** Índice de Fluxo das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.

Na segunda etapa do estudo, a avaliação da estabilidade física por determinação do comportamento reológico das formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol), F5 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Tetraisopalmitato de ascorbila), F6 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Vitamina E) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e vitamina E) pode ser avaliado por meio dos reogramas (Figuras 33 a 51) e dos valores de viscosidade aparente mínima (Tabela 9 e Figuras 52 a 54), de índice de consistência (Tabela 10 e Figuras 55 a 57) e de índice de fluxo, (Tabela 11 e Figuras 58 a 60), obtidos ao longo do período de 90 dias.

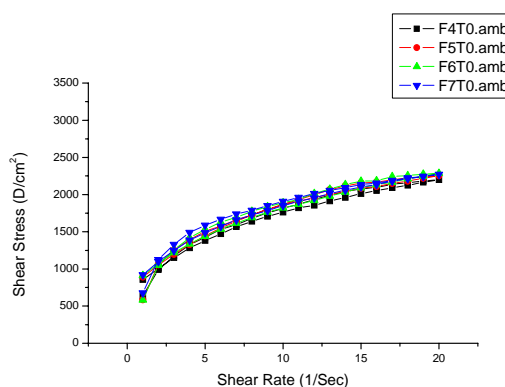
Durante o período de análise, os reogramas das formulações objeto de estudo não apresentaram alterações, tais como picos de instabilidade (Figuras 33 a 51).

Os valores de viscosidade aparente mínima (calculados a partir do ponto máximo de cisalhamento), das formulações objeto de estudo não apresentaram muitas oscilações durante o período de análise.

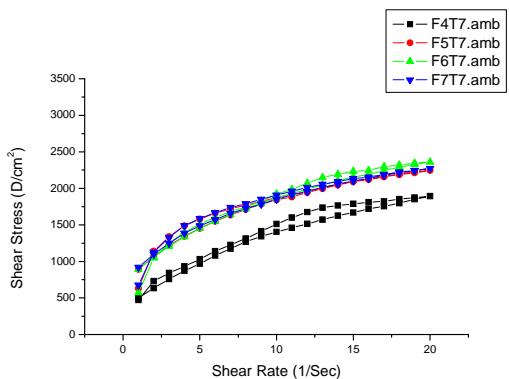
Em relação ao índice de consistência, as formulações objeto de estudo não apresentaram muitas oscilações durante os tempos 7, 14 e 21 dias. Após 28 dias de estudo, as formulações apresentaram um aumento nos valores de índice de consistência, principalmente quando armazenadas a 37 e 45°C (Tabela 10 e Figuras 55 a 57).

Todas as formulações estudadas apresentaram comportamento pseudoplástico, ou seja, índice de fluxo menor que 1, e as formulações estudadas não apresentaram grandes oscilações nos valores de índice de fluxo durante 60 dias de estudo. Após 90 dias de armazenamento a 37 e 45°C as formulações objeto de estudo apresentaram uma redução nos valores de índice de fluxo (Tabela 11 e Figuras 58 a 60).

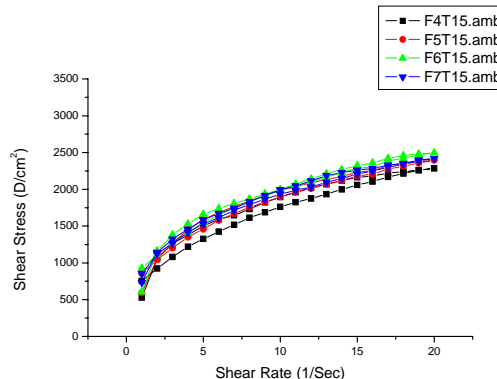
Assim, ao avaliar o conjunto de variáveis que fazem parte do estudo do comportamento reológico (perfil dos reogramas, valores de viscosidade aparente e índice de fluxo), todas as formulações objeto de estudo foram consideradas estáveis, pois não apresentaram grandes oscilações nos parâmetros analisados o que indica que a adição do tetraisopalmitato de ascorbila e da vitamina E na formulação F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) não ocasionaram instabilidade na formulação, sendo então selecionadas para os estudos posteriores.



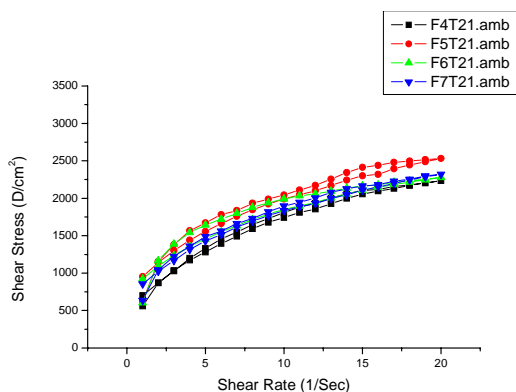
**Figura 33:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6, 7 estudadas no tempo inicial, armazenadas no ambiente.



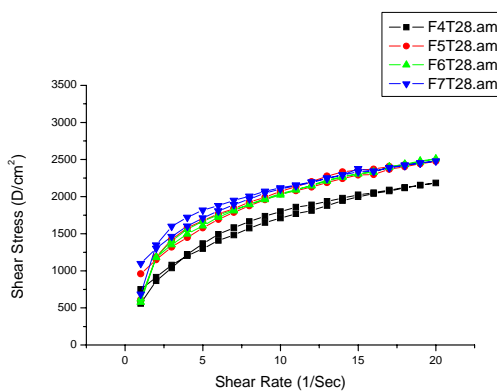
**Figura 34:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 7 dias, armazenadas no ambiente.



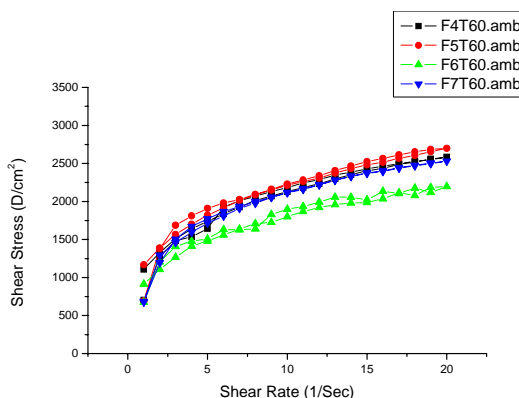
**Figura 35:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 14 dias, armazenadas no ambiente.



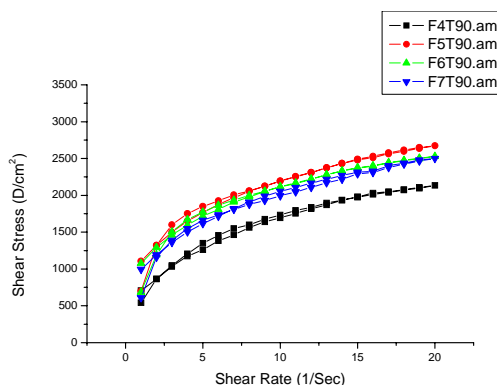
**Figura 36:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 21 dias, armazenadas no ambiente.



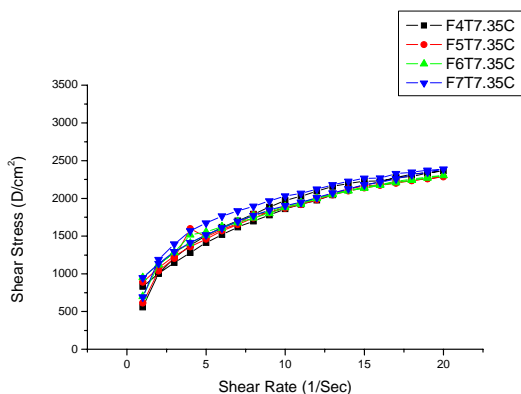
**Figura 37:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 28 dias, armazenadas no ambiente.



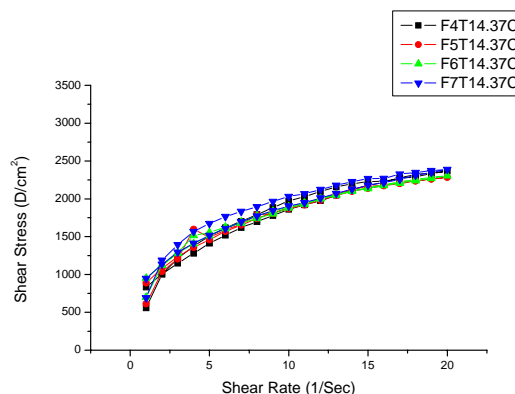
**Figura 38:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 60 dias, armazenadas no ambiente.



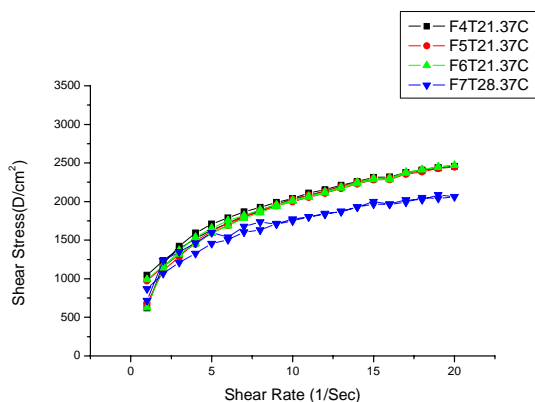
**Figura 39:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 90 dias, armazenadas no ambiente.



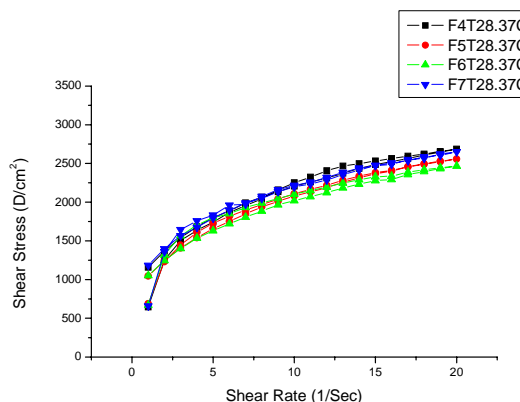
**Figura 40:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 7 dias, armazenadas a 37°C.



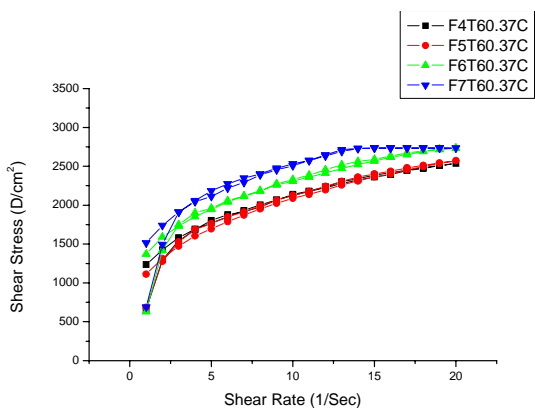
**Figura 41:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 14 dias, armazenadas a 37°C.



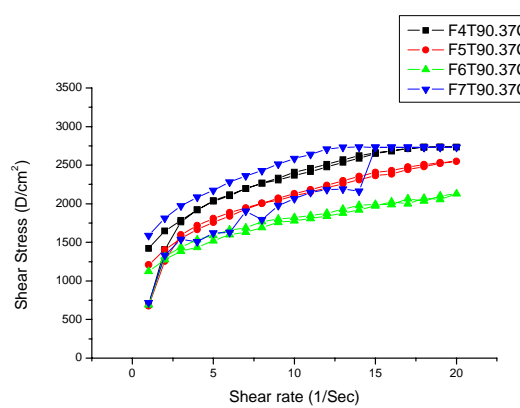
**Figura 42:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 21 dias, armazenadas a 37°C.



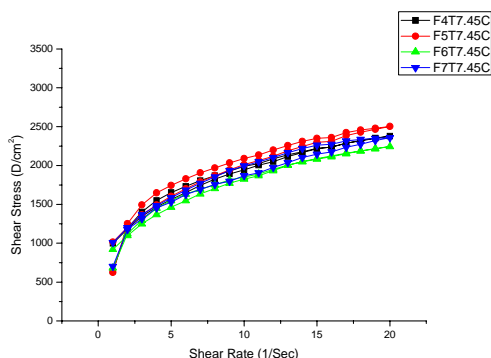
**Figura 43:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 28 dias, armazenadas a 37°C.



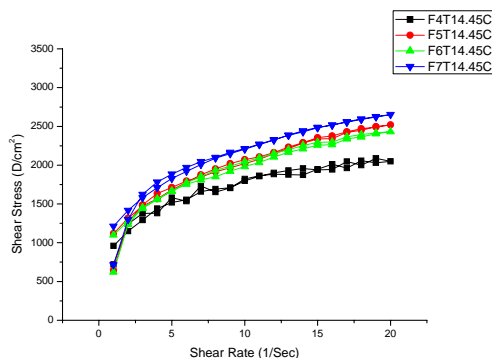
**Figura 44:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 60 dias, armazenadas a 37°C.



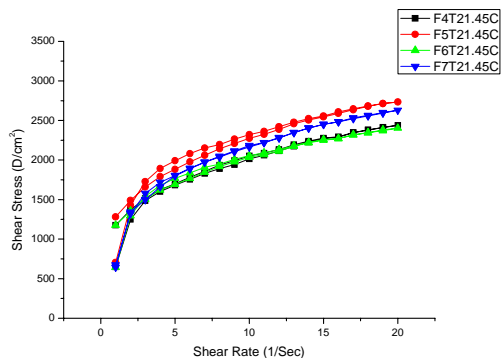
**Figura 45:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 90 dias, armazenadas a 37°C.



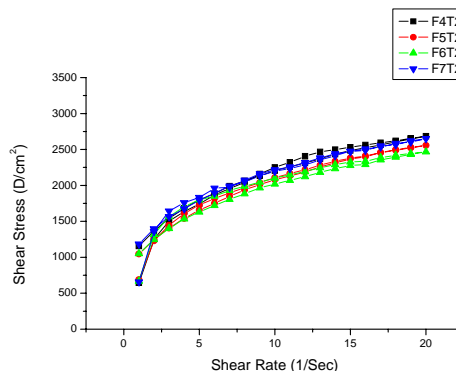
**Figura 46:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 7 dias, armazenadas a 45°C.



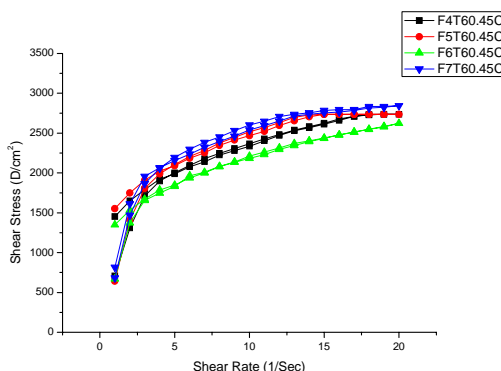
**Figura 47:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 14 dias, armazenadas a 45°C.



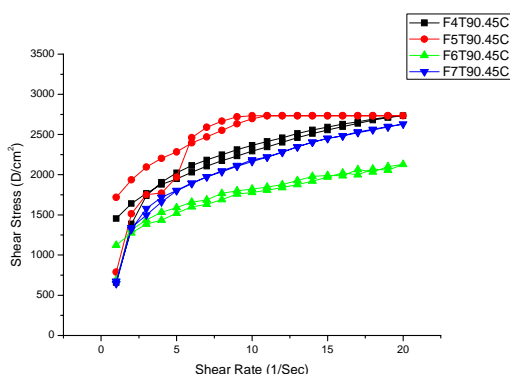
**Figura 48:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 21 dias, armazenadas a 45°C.



**Figura 49:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 28 dias, armazenadas a 45°C.



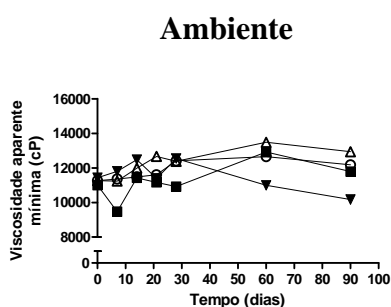
**Figura 50:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 60 dias, armazenadas a 45°C.



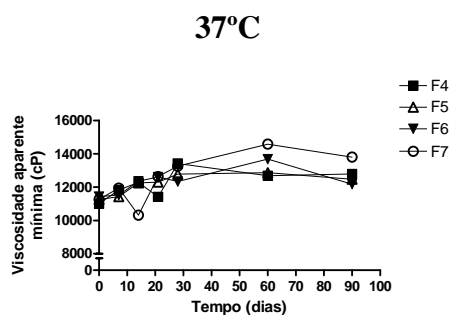
**Figura 51:** Formulações (F) de nº 4, 5, 6 e 7 estudadas no tempo 90 dias, armazenadas a 45°C.

**Tabela 9** - Valores de viscosidade aparente mínima (cP) das formulações estudadas (F4, F5, F6 e F7) nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C. Valores calculados no ponto máximo de cisalhamento.

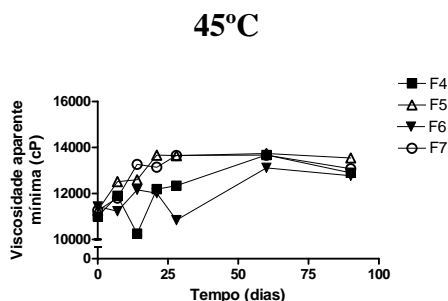
Formulações	VISCOSIDADE APARENTE (cP)						
	Ambiente						
	T0	T7	T14	T21	T28	T60	T90
<b>F4</b>	10999	9466	11422	11166	10921	12916	11784
<b>F5</b>	11265	11235	11982	12661	12375	13486	12934
<b>F6</b>	11432	11805	12484	11392	12543	10989	10172
<b>F7</b>	11265	11353	11476	11599	12405	12651	12175
<b>37°C</b>							
<b>F4</b>	10999	11825	12277	11412	13417	12680	12784
<b>F5</b>	11265	11422	12248	12297	12779	12857	12475
<b>F6</b>	11432	11520	12356	12602	12336	13673	12175
<b>F7</b>	11265	11943	10311	12631	13250	14573	13798
<b>45°C</b>							
<b>F4</b>	10999	11894	10252	12189	12336	13673	12895
<b>F5</b>	11265	12513	12592	13663	13644	13732	13542
<b>F6</b>	11432	11225	12159	12012	10842	13113	12765
<b>F7</b>	11265	11796	13260	13142	13653	13663	13072



**Figura 52:** Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.



**Figura 53:** Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.

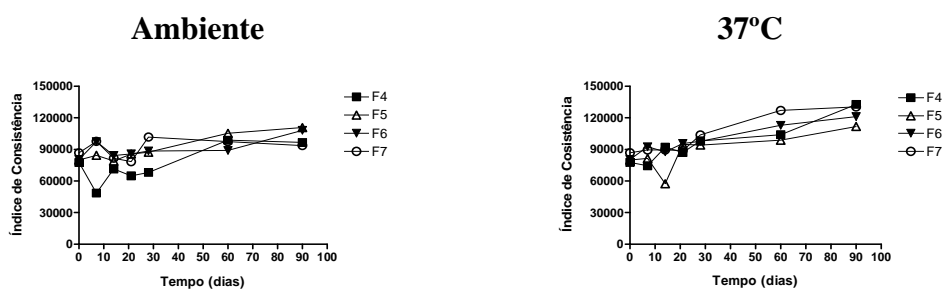


**Figura 54:** Valores de viscosidade aparente mínima das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.



**Tabela 10** - Valores de índice de consistência das formulações estudadas (F4, F5, F6 e F7) nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C.

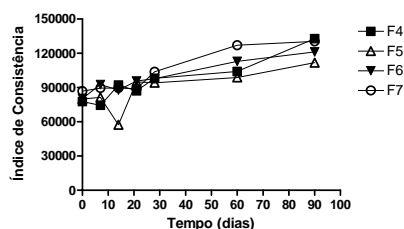
Formulações	ÍNDICE DE CONSISTÊNCIA						
	Ambiente						
	T0	T7	T14	T21	T28	T60	T90
<b>F4</b>	77657	48536	71407	64916	68232	98850	96661
<b>F5</b>	79900	84489	79008	85646	87407	105253	110866
<b>F6</b>	80467	97441	84250	85829	88615	89088	108187
<b>F7</b>	86766	97716	81680	78384	101872	97441	93721
<b>37°C</b>							
<b>F4</b>	77657	74418	92152	87027	98084	104027	132768
<b>F5</b>	79900	81458	57412	94951	94227	98828	111750
<b>F6</b>	80467	92564	87779	95626	97829	112934	121224
<b>F7</b>	86766	89555	89516	88938	103812	127031	130419
<b>45°C</b>							
<b>F4</b>	77657	90711	94224	100277	88414	117106	130171
<b>F5</b>	79900	92130	97099	112025	113355	122674	150406
<b>F6</b>	80467	86392	95258	102617	96265	111261	102059
<b>F7</b>	86766	91030	106415	95258	114482	129688	120935



**Figura 55:** Índice de Consistência das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.

**Figura 56:** Índice de Consistência das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.

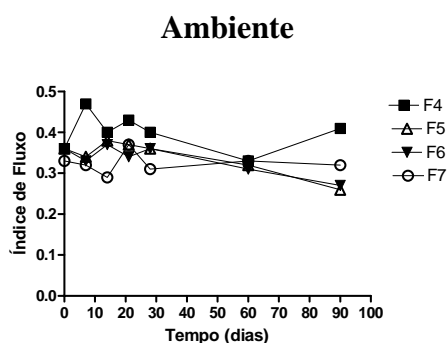
45°C



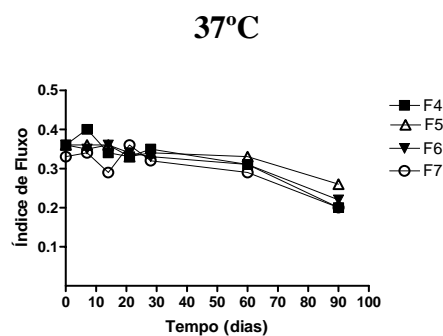
**Figura 57:** Índice de Consistência das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.

**Tabela 11** - Valores de índice de fluxo das formulações estudadas (F4, F5, F6 e F7) nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias, quando mantidas no ambiente, ou submetidas às temperaturas de 37 e 45°C.

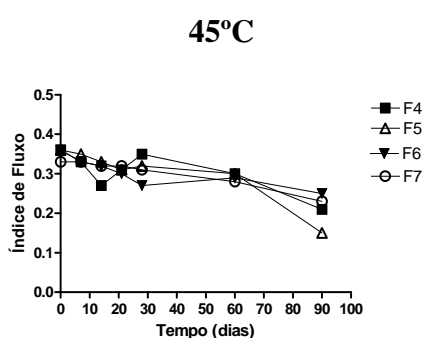
Formulações	ÍNDICE DE FLUXO						
	Ambiente						
	T0	T7	T14	T21	T28	T60	T90
<b>F4</b>	0,36	0,47	0,40	0,43	0,40	0,33	0,41
<b>F5</b>	0,36	0,34	0,38	0,37	0,36	0,32	0,26
<b>F6</b>	0,36	0,33	0,37	0,34	0,36	0,31	0,27
<b>F7</b>	0,33	0,32	0,29	0,37	0,31	0,33	0,32
<b>37°C</b>							
<b>F4</b>	0,36	0,40	0,34	0,33	0,35	0,31	0,20
<b>F5</b>	0,36	0,36	0,36	0,33	0,34	0,33	0,26
<b>F6</b>	0,36	0,35	0,36	0,34	0,33	0,31	0,22
<b>F7</b>	0,33	0,34	0,29	0,36	0,32	0,29	0,20
<b>45°C</b>							
<b>F4</b>	0,36	0,33	0,27	0,31	0,35	0,30	0,21
<b>F5</b>	0,36	0,35	0,33	0,31	0,32	0,30	0,15
<b>F6</b>	0,36	0,33	0,32	0,30	0,27	0,29	0,25
<b>F7</b>	0,33	0,33	0,32	0,32	0,31	0,28	0,23



**Figura 58:** Índice de Fluxo das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas no ambiente, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.



**Figura 59:** Índice de Fluxo das formulações (F) 1, 2, 3 e 4 armazenadas na temperatura 37°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21 e 28 dias.



**Figura 60:** Índice de Fluxo das formulações (F) 4, 5, 6 e 7 armazenadas na temperatura 45°C, nos tempos inicial (0), 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias.

### 6.3.1. Avaliação primária da compatibilidade cutânea

Os resultados obtidos no teste de compatibilidade cutânea das formulações em estudo por *patch test*, mostrou que todas as formulações estudadas apresentaram compatibilidade cutânea muito boa, uma vez que não foram observadas reações de irritação após 48 horas de contato sob oclusão (Tabela 12).

**Tabela 12** – Compatibilidade cutânea das voluntárias após 48 horas de aplicação das formulações F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol), F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E) por meio de teste de contato oclusivo sob apósito FINN CHAMBER®.

<b>Formulações</b>					
<b>Voluntários</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F7</b>
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0

## 6.4. Avaliação da eficácia clínica das formulações objeto de estudo

### 6.4.1. Avaliação Sensorial

As notas relacionadas à avaliação sensorial, dos parâmetros avaliados (sensação ao toque e pegajosidade, espalhabilidade e aparência da pele, sensação da pele imediatamente após aplicação, sensação da pele após 5 minutos, hidratação e textura da pele) obtidos após a aplicação das formulações em estudo nos antebraços estão apresentadas no Apêndice A.

Os resultados dos testes estatísticos referentes à avaliação sensorial encontram-se nas Tabelas 13 a 21 e nas Figuras 61 a 63.

Os dados experimentais obtidos na avaliação de cada parâmetro (sensação ao toque e pegajosidade, espalhabilidade e aparência da pele, sensação da pele imediatamente após aplicação, sensação da pele após 5 minutos, hidratação, textura da pele e intenção de compra) nos antebraços das voluntárias, consistiram em 80 valores para os antebraços, correspondentes ao cruzamento dos valores obtidos das formulações elaboradas na primeira fase do estudo (F1, F2, F3 e F4) x 20 repetições, dando o produto fatorial  $4 \times 20 = 80$ .

Com o objetivo de verificar se as amostras eram homogêneas e apresentavam uma distribuição normal, foram realizados testes estatísticos preliminares, a fim de decidir sobre que tipos de testes deveriam ser empregados (paramétricos ou não paramétricos).

Os testes estatísticos preliminares mostraram que as amostras testadas apresentaram-se homogêneas com uma distribuição de frequências normal, permitindo assim a utilização de teste paramétrico para análise dos dados.

O teste paramétrico que melhor se adaptou ao modelo experimental foi a Análise de Variância, utilizada para dados vinculados seguido do teste complementar de Tukey para a comparação de mais de duas amostras entre si.

Na avaliação sensorial foi possível observar que nos parâmetros sensação ao toque e pegajosidade e espalhabilidade as formulações F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) foram as que obtiveram notas significativamente maiores em relação às outras formulações estudadas (Figuras 61A e 61B).

Em relação aos parâmetros sensação imediata na pele e sensação na pele após 5 minutos, as formulações estudadas acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol não apresentaram diferença nas notas atribuídas pelas voluntárias (Figuras 62A e 62B).

Já no parâmetro hidratação a formulação F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) foram as que obtiveram maior aceitação pelas voluntárias recebendo notas estatisticamente maiores que as demais formulações estudadas (Figura 63A).

No parâmetro textura da pele, as formulações estudadas acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol não apresentaram diferença nas notas atribuídas pelas voluntárias (Figuras 63B).

Assim sendo, avaliando-se o conjunto de parâmetros estudados, foi possível observar que a formulação nº 4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) foi o que teve melhor aceitação pelas voluntárias comparando-se aos demais.

**Tabela 13** – Avaliação sensorial do parâmetro; Sensação ao toque e pegajosidade (A) – Análise de Variância, n = 20.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	3	7,938	2,646	6,95	0,000
Resíduo	76	28,950	0,381		
Variação total	79	36,888			

**Tabela 14** - Teste de Tukey – Avaliação sensorial do parâmetro; Sensação ao toque e pegajosidade (A) – n = 20.

Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
F1	3,9000	
F2	4,4500	0,6172
F3	3,8000	
F4	4,5000	

**Tabela 15** – Avaliação sensorial do parâmetro; Espalhabilidade (B) – Análise de Variância, n = 20.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	3	5,100	1,700	6,18	0,001
Resíduo	76	20,900	0,275		
Variação total	79	26,000			

**Tabela 16** - Teste de Tukey – Avaliação sensorial do parâmetro; Espalhabilidade (B) – n = 20.

<b>Formulação</b>	<b>Média</b>	<b>Valor crítico de Tukey 0,1%</b>
F1	4,3000	
F2	4,7500	0,5244
F3	4,2000	
F4	4,7500	

**Tabela 17** – Avaliação sensorial do parâmetro; Sensação da pele imediata após a aplicação (C) – Análise de Variância, n = 20.

<b>Fonte de Variação</b>	<b>Soma de Quadr</b>	<b>G.L</b>	<b>Quadr.Médios</b>	<b>(F)</b>	<b>Prob.(H0)</b>
Entre colunas	3	0,137	0,046	0,08	0,970
Resíduo	76	42,850	0,564		
Variação total	79	42,988			

**Tabela 18** – Avaliação sensorial do parâmetro; Sensação da pele após 5 minutos da aplicação (D) – Análise de Variância, n = 20.

<b>Fonte de Variação</b>	<b>Soma de Quadr</b>	<b>G.L</b>	<b>Quadr.Médios</b>	<b>(F)</b>	<b>Prob.(H0)</b>
Entre colunas	3	0,738	0,246	0,37	0,773
Resíduo	76	50,150	0,660		
Variação total	79	50,888			

**Tabela 19** – Avaliação sensorial do parâmetro; Hidratação (E) – Análise de Variância, n = 20.

<b>Fonte de Variação</b>	<b>Soma de Quadr</b>	<b>G.L</b>	<b>Quadr.Médios</b>	<b>(F)</b>	<b>Prob.(H0)</b>
Entre colunas	3	7,250	2,417	5,69	0,001
Resíduo	76	32,300	0,425		
Variação total	79	39,550			



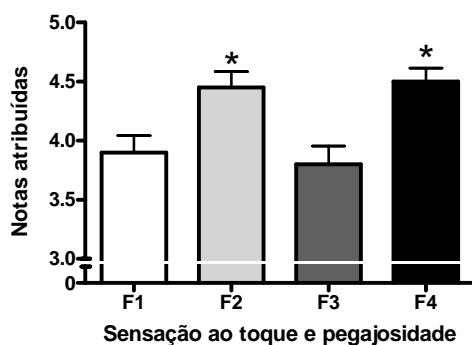
**Tabela 20** - Teste de Tukey – Avaliação sensorial do parâmetro; Hidratação (E) – n = 20.

Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
F1	4,0000	
F2	4,0500	0,6519
F3	4,6500	
F4	4,6000	

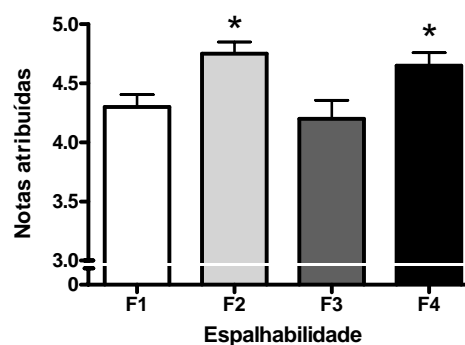
**Tabela 21** – Avaliação sensorial do parâmetro; Textura da pele (F) – Análise de Variância, n = 20.

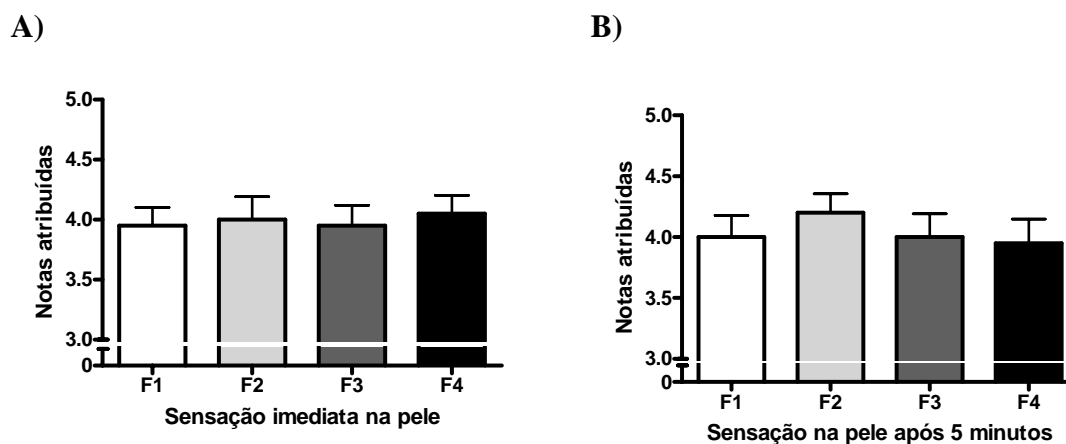
Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	3	0,337	0,112	0,18	0,907
Resíduo	76	46,550	0,613		
Variação total	79	46,888			

A)

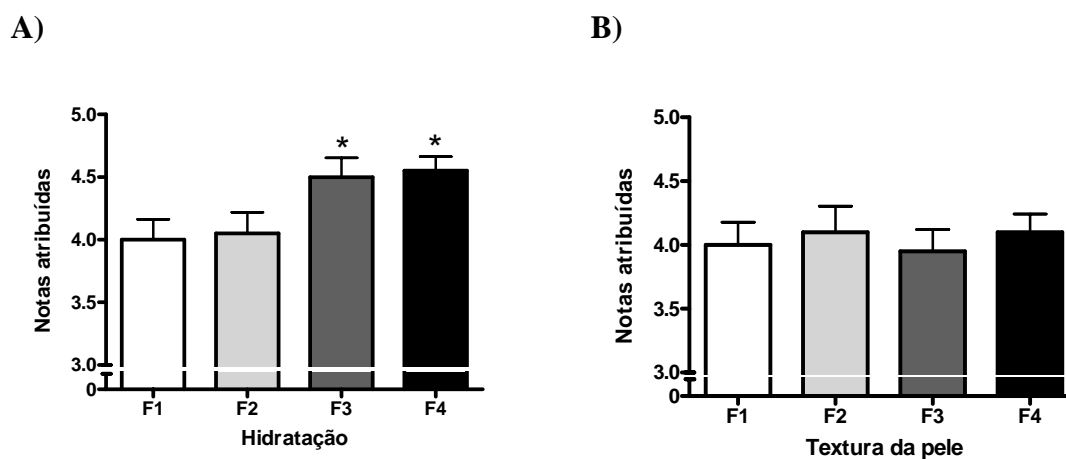


B)

**Figura 61** - Avaliação sensorial dos parâmetros; Sensação ao toque e pegajosidade (A) e Espalhabilidade (B) das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).\*Significativo em relação ao basal ( $p < 0,001$ ).



**Figura 62** - Avaliação sensorial dos parâmetros; Sensação imediata na pele (A) e Sensação na pele após 5 minutos (B) das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).



**Figura 63** - Avaliação sensorial dos parâmetros; Hidratação (A) e Textura da pele (B) das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

\*Significativo em relação ao basal ( $p < 0,001$ ).

## **6.4.2. Avaliação da eficácia clínica por técnicas biofísicas e de análise de imagem da pele**

### **6.4.2.1. Primeira fase dos estudos de avaliação de eficácia**

#### **6.4.2.1.1. Avaliação dos efeitos das formulações por determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidermica (TEWL), do micro relevo cutâneo, das propriedades mecânicas da pele e do índice de eritema**

Os valores obtidos na determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo (Apêndices B e C), da perda de água transepidermica (TEWL) (Apêndices D e E), do micro-relevo cutâneo (Apêndices F e G), das propriedades mecânicas da pele (Apêndices H e I) e do Índice de eritema (Apêndices J e K), obtidos no tempo inicial (valores basais) e após 3 horas da aplicação única das formulações objeto de estudo (efeitos imediatos), nos antebraços e na face das voluntárias, foram submetidos à análise estatística descrita a seguir.

##### **6.4.2.1.1.1. Estudo estatístico dos resultados obtidos**

Os dados experimentais obtidos na avaliação de cada parâmetro (conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidermica (TEWL), do micro relevo cutâneo, das propriedades mecânicas da pele e do índice de eritema) nos antebraços das voluntárias, consistiram em 240 valores para os antebraços, correspondentes ao cruzamento dos valores obtidos das 4 formulações (F1, F2, F3 e F4) x 2 tempos (inicial e 3 horas) x 30 repetições, dando o produto fatorial  $4 \times 2 \times 30 = 240$  e os dados experimentais na avaliação dos mesmos parâmetros acima citados na face das voluntárias, consistiram em 136 valores para a face, correspondentes ao cruzamento dos valores obtidos das 4 formulações (F1, F2, F3 e F4) x 2 tempos (inicial e 3 horas) x 17 repetições, dando o produto fatorial  $4 \times 2 \times 17 = 136$ .

Com o objetivo de verificar se as amostras eram homogêneas e apresentavam uma distribuição normal, foram realizados testes estatísticos preliminares, a fim de decidir sobre que tipos de testes deveriam ser empregados (paramétricos ou não paramétricos).

Os testes estatísticos preliminares mostraram que as amostras testadas apresentaram-se homogêneas com uma distribuição de frequências normal, permitindo assim a utilização de teste paramétrico para análise dos dados.

O teste paramétrico que melhor se adaptou ao modelo experimental foi a Análise de Variância, utilizada para dados vinculados seguido de o teste complementar de Tukey para a comparação de mais de duas amostras entre si.

#### 6.4.2.1.1.2. Conteúdo aquoso do estrato córneo

Os valores do conteúdo aquoso do estrato córneo obtidos com a aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias estão apresentados nos Apêndices B e C respectivamente.

Os resultados do teste estatístico (teste de análise de variância) mostraram que as formulações objeto de estudo foram estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,001$ ), ou seja, comportaram-se de maneira diferente em relação aos tempos iniciais e após 3 horas da aplicação e estão apresentados nas tabelas 22 e 24.

A fim de comparar quais médias eram diferentes entre si, foi realizado o teste de Tukey (Tabelas 23 e 25), cujos resultados são melhor visualizados quando representados em gráficos tipos colunas agrupados.

Em relação aos valores obtidos, observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias ocasionaram um aumento do conteúdo aquoso do estrato córneo ( $p < 0,001$ ) quando comparados aos valores basais, após 3 horas da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de umectação cutânea quando comparados com o veículo (Figuras 64A e 64B).

**Tabela 22** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Análise de Variância,  $n = 30$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	4569,6	652,8	12,50	0,000
Resíduo	232	12119,3	52,2		
Variação total	239	16688,9			

**Tabela 23** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 30.

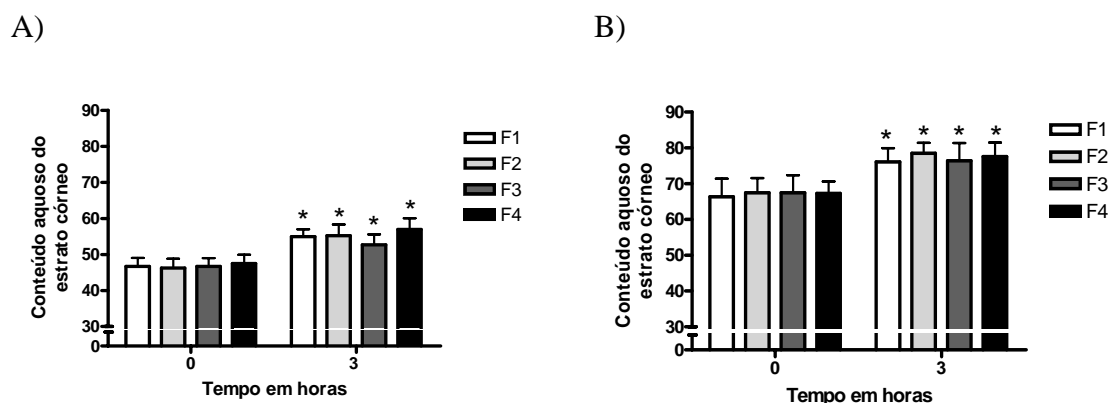
<b>Tempo</b>	<b>Formulação</b>	<b>Média</b>	<b>Valor crítico de Tukey 0,1%</b>
T 0 (inicial)	F1	46,653	7,228
	F2	46,190	
	F3	46,697	
	F4	47,467	
T 3 horas	F1	55,907	
	F2	55,170	
	F3	52,670	
	F4	56,920	

**Tabela 24** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região da face – Análise de Variância, n = 17.

<b>Fonte de Variação</b>	<b>Soma de Quadr</b>	<b>G.L</b>	<b>Quadr.Médios</b>	<b>(F)</b>	<b>Prob.(H0)</b>
Entre colunas	7	167,04	23,86	8,51	0,000
Resíduo	232	650,19	2,80		
Varição total	239	817,23			

**Tabela 25** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região da face – Teste de Tukey, n = 30.

<b>Tempo</b>	<b>Formulação</b>	<b>Média</b>	<b>Valor crítico de Tukey 0,1%</b>
T 0 (inicial)	F1	5,289	1,674
	F2	5,420	
	F3	5,298	
	F4	5,356	
T 3 horas	F1	4,293	
	F2	3,636	
	F3	3,555	
	F4	3,470	



**Figura 64** - Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

\*Significativo em relação ao basal ( $p < 0,001$ ).

#### 6.4.2.1.1.3. Perda de água transepidermica (TEWL)

Os valores da perda de água transepidermica obtidos com a aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices D e E respectivamente.

Os resultados do teste estatístico (teste de análise de variância) mostraram que as formulações objeto de estudo foram estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,001$ ), ou seja, comportaram-se de maneira diferente em relação aos tempos inicial e após 3 horas da aplicação e estão apresentados nas tabelas 26 e 28.

A fim de comparar quais médias eram diferentes entre si, foi realizado o teste de Tukey (Tabelas 27 e 29), cujos resultados são melhor visualizados quando representados em gráficos tipos colunas agrupados.

Em relação aos valores obtidos nos antebraços das voluntárias, observou-se que as formulações F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) ocasionaram uma diminuição significativa na perda de água transepidermica ( $p < 0,001$ ) após 3 horas de aplicação das formulações, quando comparados aos valores basais (Figura 65A). Já em relação aos valores obtidos na face das voluntárias, observou-se que apenas as formulações F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) ocasionaram uma diminuição significativa na perda de água transepidermica ( $p < 0,001$ ) após 3 horas de aplicação das formulações, quando comparados aos valores basais (Figura 65B).

**Tabela 26** – Perda de água transepidérmica da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	167,04	23,86	8,51	0,000
Resíduo	232	650,19	2,80		
Varição total	239	817,23			

**Tabela 27** – Perda de água transepidérmica da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 30.

Tempo	Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
T 0 (inicial)	F1	5,289	1,674
	F2	5,420	
	F3	5,298	
	F4	5,356	
T 3 horas	F1	4,293	
	F2	3,636	
	F3	3,555	
	F4	3,470	

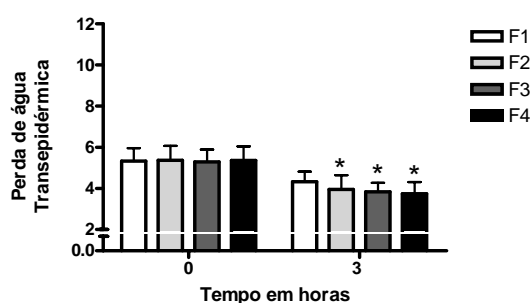
**Tabela 28** – Perda de água transepidérmica da região da face – Análise de Variância, n = 17.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	281,18	40,17	8,99	0,000
Resíduo	128	572,02	4,47		
Varição total	135	853,20			

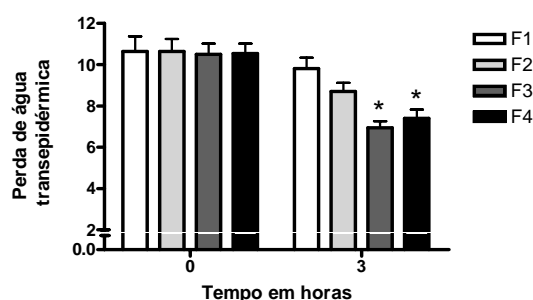
**Tabela 29** – Perda de água transepidermica da região da face – Teste de Tukey, n = 30.

Tempo	Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
T 0 (inicial)	F1	10,635	2,114
	F2	10,641	
	F3	10,503	
	F4	10,535	
T 3 horas	F1	9,806	
	F2	8,526	
	F3	6,941	
	F4	7,400	

A)



B)



**Figura 65** - Perda de água transepidermica da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol). \*Significativo em relação ao basal ( $p < 0,001$ ).

#### 6.4.2.1.1.4. Micro-relevo cutâneo

##### Se<sub>r</sub> – aspereza da pele

Os valores relacionados ao Se<sub>r</sub> (aspereza da pele) obtidos por profilometria óptica, após a aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices F e G respectivamente.



Os resultados do teste estatístico (teste de análise de variância) mostraram que as formulações objeto de estudo não foram estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,05$ ) e estão apresentados nas tabelas 30 e 31.

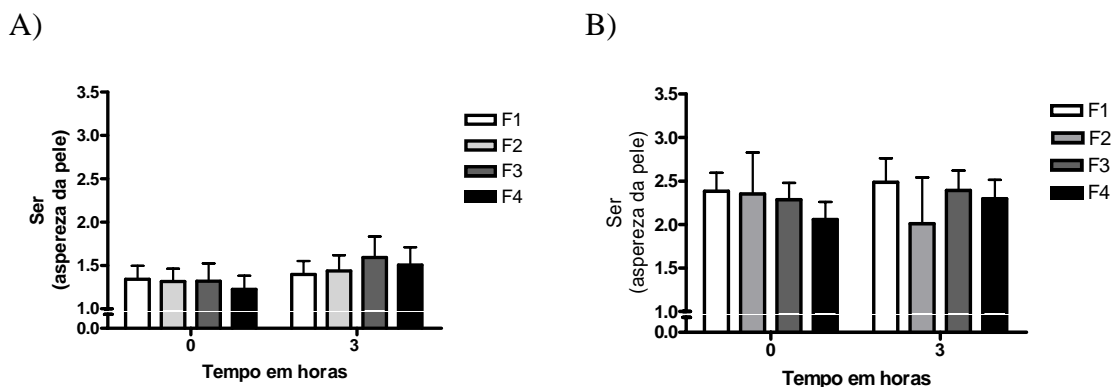
Os valores obtidos de  $Se_r$  (aspereza da pele), mostraram que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de  $Se_r$  (aspereza da pele) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 3 horas da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de  $Se_r$  que está relacionado com a aspereza da pele quando comparados com o veículo (Figuras 66A e 66B).

**Tabela 30** –  $Se_r$  (aspereza da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância,  $n = 30$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	2,916	0,417	1,72	0,104
Resíduo	232	56,027	0,241		
Variação total	239	58,943			

**Tabela 31** –  $Se_r$  (aspereza da pele) da região da face – Análise de Variância,  $n = 17$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	7,89	1,13	0,92	0,491
Resíduo	128	156,32	1,22		
Variação total	135	164,22			



**Figura 66** -  $Se_r$  da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

#### $Se_w$ – número de rugas

Os valores relacionados ao  $Se_w$  (número de rugas) obtidos por profilometria óptica, após a aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices F e G respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao  $Se_w$  (número de rugas), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados nas Tabelas 32 e 33.

Em relação aos valores de  $Se_w$  (número de rugas), observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de  $Se_w$  (número de rugas) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 3 horas da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de  $Se_w$  que está relacionado com o número de rugas da pele quando comparados com o veículo (Figuras 67A e 67B).

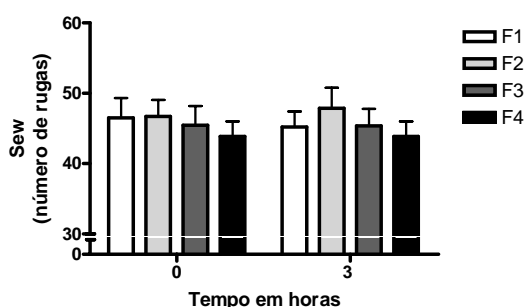
**Tabela 32** –  $Se_w$  (número de rugas) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	299,4	42,8	0,96	0,464
Resíduo	232	10376,1	44,7		
Varição total	239	10675,4			

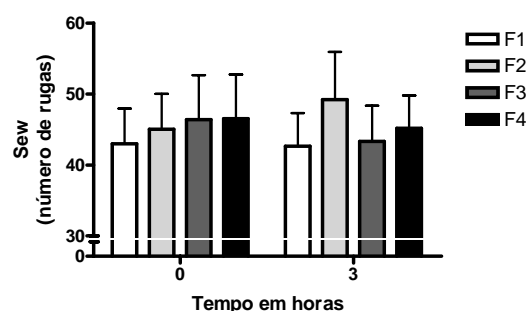
**Tabela 33** –  $Se_w$  (número de rugas) da região da face – Análise de Variância, n = 17.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	923	132	1,05	0,397
Resíduo	128	16021	125		
Varição total	135	16944			

A)



B)

**Figura 67** -  $Se_w$  (número de rugas) da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

### $Se_{sm}$ – textura da pele

Os valores relacionados ao  $Se_{sm}$  (textura da pele) obtidos por profilometria óptica, após a aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices F e G respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao micro-relevo cutâneo, obtidos por profilometria óptica, estão apresentados nas Tabelas 34 e 35.

Em relação aos valores de  $Se_{sm}$  (textura da pele), observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de  $Se_{sm}$  (textura da pele) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 3 horas da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de  $Se_{sm}$  que está relacionado com a textura da pele quando comparados com o veículo (Figuras 68A e 68B).

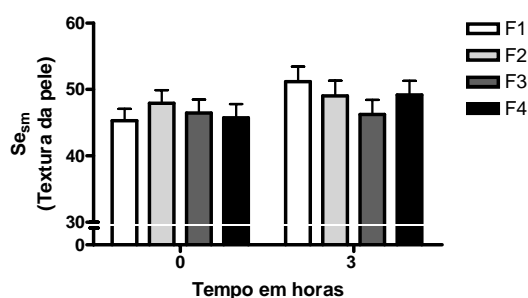
**Tabela 34** –  $Se_{sm}$  (textura da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância,  $n = 30$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	838	120	0,85	0,545
Resíduo	272	38198	140		
Varição total	279	39036			

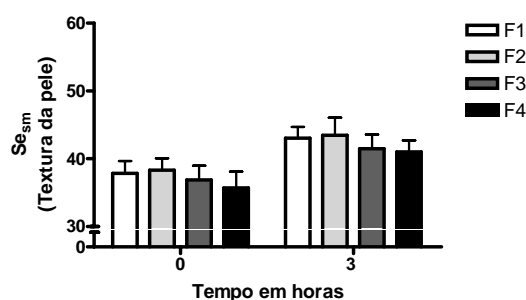
**Tabela 35** –  $Se_{sm}$  (textura da pele) da região da face – Análise de Variância,  $n = 17$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	1005,4	143,6	1,99	0,061
Resíduo	132	9513,1	72,1		
Varição total	139	10518			

A)



B)



**Figura 68** -  $Se_{sm}$  (textura da pele) da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

**R<sub>t</sub> – rugosidade**

Os valores relacionados ao R<sub>t</sub> (rugosidade) obtidos por profilometria óptica, após a aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices F e G respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao R<sub>t</sub> (rugosidade), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados nas Tabelas 36 e 37.

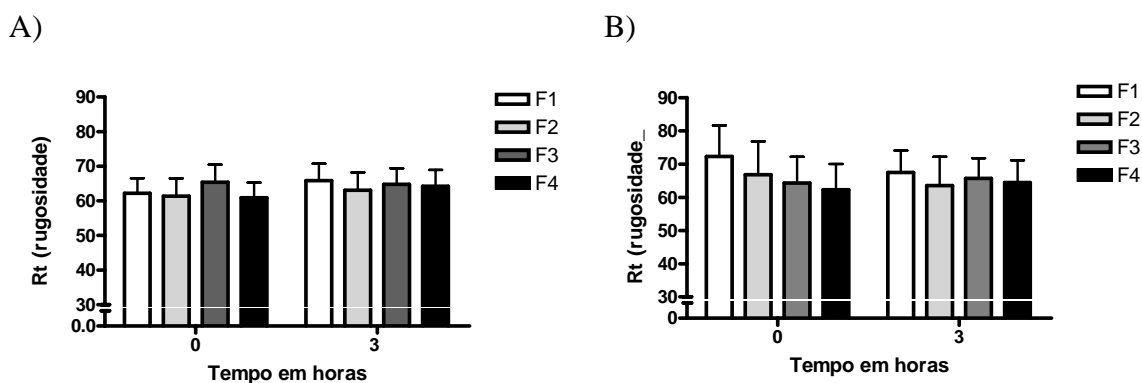
Em relação aos valores de R<sub>t</sub> (rugosidade), observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de R<sub>t</sub> (rugosidade) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 3 horas da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de R<sub>t</sub> que está relacionado com a rugosidade da pele quando comparados com o veículo (Figuras 69A e 69B).

**Tabela 36** – R<sub>t</sub> (rugosidade) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	744	106	0,64	0,722
Resíduo	232	38488	166		
Variação total	239	39233			

**Tabela 37** – R<sub>t</sub> (rugosidade) da região da face – Análise de Variância, n = 17.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	1150	164	0,68	0,685
Resíduo	128	30735	240		
Variação total	135	31885			



**Figura 69** -  $R_t$  da região dos antebraços das voluntárias (A) e da face (B), antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

#### 6.4.2.1.1.5. Propriedades mecânicas da pele por análise das características anisotrópicas

Os valores relacionados as propriedades mecânicas da pele obtidos por análise das características anisotrópicas, após a aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices H e I respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados às propriedades mecânicas da pele estão apresentados nas Tabelas 38 e 39.

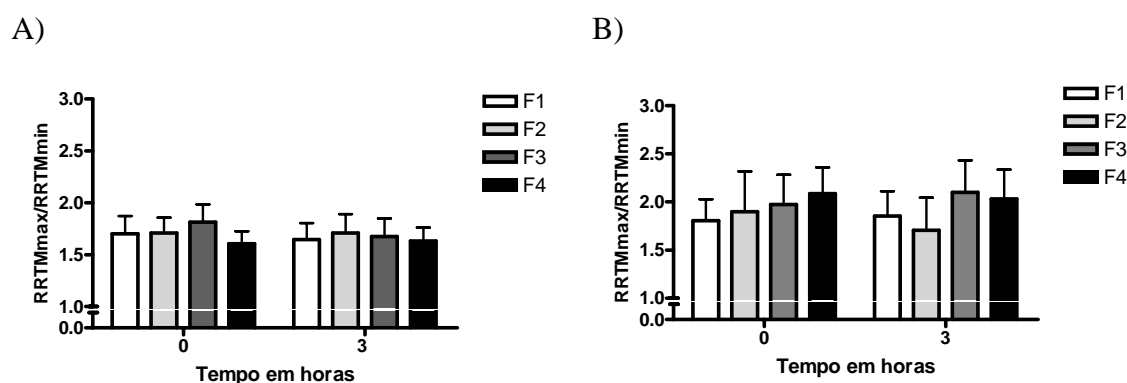
Em relação aos valores das propriedades mecânicas, observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nas características anisotrópicas da pele ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 3 horas da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram as características anisotrópicas da pele que estão relacionados com a organização das fibras de colágeno e elastina da pele quando comparados com o veículo (Figuras 70A e 70B).

**Tabela 38** – Propriedades mecânicas da pele da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	0,856	0,122	0,68	0,69
Resíduo	232	41,828	0,180		
Varição total	239	42,685			

**Tabela 39** – Propriedades mecânicas da pele da região da face – Análise de Variância, n = 17.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	2,353	0,336	0,91	0,497
Resíduo	128	47,042	0,368		
Varição total	135	49,396			

**Figura 70** - Propriedades mecânicas da pele (RRTMmax/RRTMmin) da região dos antebraços (A) e da face (B), antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

#### 6.4.2.1.1.6. Índice de eritema

Os valores relacionados ao índice de eritema obtidos pelo princípio da absorção de luz, após a aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices J e K respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao índice de eritema, obtidos pelo princípio da absorção de luz, estão apresentados nas Tabelas 40 e 41.

Em relação aos valores de índice de eritema, observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de índice de eritema ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 3 horas da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de índice de eritema (Figuras 71A e 71B).

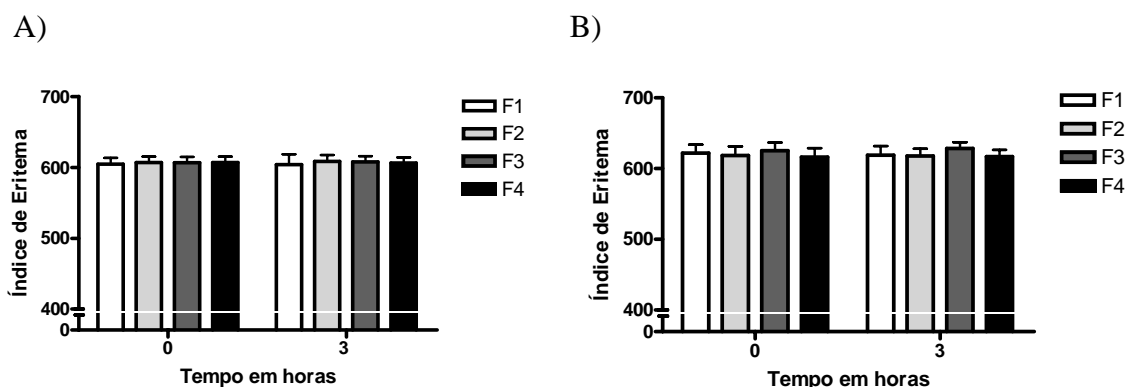
**Tabela 40** – Índice de eritema da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	744	106	0,64	0,722
Resíduo	232	38488	166		
Varição total	239	39233			

**Tabela 41** – Índice de eritema da região da face – Análise de Variância, n = 17.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	1150	164	0,68	0,685
Resíduo	128	30735	240		
Varição total	135	31885			





**Figura 71** - Índice de eritema da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 3 horas de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

#### 6.4.2.2. Avaliação dos efeitos das formulações em longo prazo

Dando sequência aos testes de eficácia, foi realizada a avaliação em longo prazo dos efeitos da aplicação diária por um período de 30 dias das formulações objeto de estudo, este estudo é de grande importância, uma vez que possibilita avaliar um produto dermocosmético nas reais condições de uso permitindo a elucidação científica dos seus efeitos na pele em longo prazo.

##### 6.4.2.2.1. Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidérmica (TEWL), do micro relevo cutâneo, das propriedades mecânicas da pele e do índice de eritema.

Os valores obtidos na determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo (Apêndices L e M), da perda de água transepidérmica (TEWL) (Apêndices N e O), do micro-relevo cutâneo (Apêndices P e Q), da anisotropia da pele (Apêndice R e S) e do Índice de eritema (Apêndices T e U), obtidos no tempo inicial (valores basais) e após 15 e 30 dias da aplicação das formulações objeto de estudo (efeitos em longo prazo), nos antebraços e na face das voluntárias, foram submetidos à análise estatística descrita a seguir.

#### 6.4.2.2.1.1. Estudo estatístico dos resultados obtidos

Os dados experimentais obtidos na avaliação de cada parâmetro (conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidermica (TEWL), do micro relevo cutâneo, das propriedades mecânicas da pele e do índice de eritema nos antebraços das voluntárias, consistiram em 216 valores para os antebraços, correspondentes ao cruzamento dos valores obtidos das 4 formulações (F1, F2, F3 e F4) x 3 tempos (inicial, 15 e 30 dias) x 18 repetições, dando o produto fatorial  $4 \times 3 \times 18 = 216$  e os dados experimentais na avaliação dos mesmos parâmetros acima citados na face das voluntárias, consistiram em 180 valores para a face, correspondentes ao cruzamento dos valores obtidos das 4 formulações (F1, F2, F3 e F4) x 3 tempos (inicial, 15 e 30 dias) x 15 repetições, dando o produto fatorial  $4 \times 3 \times 15 = 180$ .

Com o objetivo de verificar se as amostras eram homogêneas e apresentavam uma distribuição normal, foram realizados testes estatísticos preliminares, a fim de decidir sobre que tipos de testes deveriam ser empregados (paramétricos ou não paramétricos).

Os testes estatísticos preliminares mostraram que as amostras testadas apresentaram-se homogêneas com uma distribuição de frequências normal, permitindo assim a utilização de teste paramétrico para análise dos dados.

O teste paramétrico que melhor se adaptou ao modelo experimental foi a Análise de Variância, utilizada para dados vinculados seguido de o teste complementar de Tukey para a comparação de mais de duas amostras entre si.

#### 6.4.2.2.1.2. Conteúdo aquoso do estrato córneo

Os valores do conteúdo aquoso do estrato córneo obtidos antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices L e M respectivamente.

Os resultados do teste estatístico (análise de variância) mostraram que as formulações objeto de estudo foram estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,001$ ), ou seja, comportaram-se de maneira diferente em relação aos tempos inicial e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações e estão apresentados nas tabelas 42 e 44.

A fim de comparar quais médias eram diferentes entre si, foi realizado o teste de Tukey (Tabelas 43 e 45), cujos resultados são melhor visualizados quando representados em gráfico tipo colunas agrupados.

Em relação aos valores obtidos, observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol)

quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias ocasionaram um aumento do conteúdo aquoso do estrato córneo ( $p < 0,001$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 e 30 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alterou os valores de umectação cutânea quando comparados com o veículo (Figuras 72A e 72B).

**Tabela 42** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Análise de Variância,  $n = 18$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	4380,5	398,22	7,45	0,000
Resíduo	204	10899,9	53,4		
Varição total	215	15280,4			

**Tabela 43** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Teste de Tukey,  $n = 18$ .

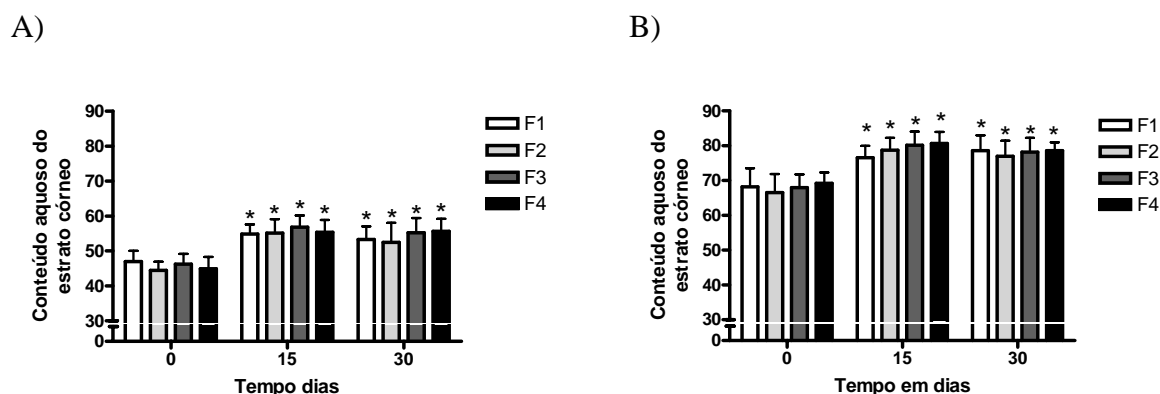
Tempo	Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
T 0 (inicial)	F1	46,939	
	F2	44,472	
	F3	46,236	
	F4	44,911	
T 15 dias	F1	54,861	
	F2	55,139	7,310
	F3	56,828	
	F4	55,350	
T 30 dias	F1	53,300	
	F2	52,489	
	F3	55,211	
	F4	55,656	

**Tabela 44** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região da face – Análise de Variância, n = 15.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	4418,5	401,7	7,28	0,000
Resíduo	168	9271,7	55,2		
Variação total	179	13690,3			

**Tabela 45** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 15.

Tempo	Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
T 0 (inicial)	F1	69,547	
	F2	66,547	
	F3	67,980	
	F4	69,187	
T 15 dias	F1	76,547	
	F2	78,727	7,429
	F3	80,160	
	F4	80,647	
T 30 dias	F1	78,580	
	F2	77,007	
	F3	78,173	
	F4	77,947	



**Figura 72** - Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol. \*Significativo em relação ao basal ( $p < 0,001$ ).

#### 6.4.2.2.1.3. Perda de água transepidérmica (TEWL)

Os valores da perda de água transepidérmica obtidos antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias estão apresentados nos Apêndices N e O respectivamente.

Os resultados do teste estatístico (análise de variância) mostraram que as formulações objeto de estudo foram estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,001$ ), ou seja, comportaram-se de maneira diferente em relação aos tempos inicial e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações e estão apresentados nas tabelas 46 e 48.

A fim de comparar quais médias eram diferentes entre si, foi realizado o teste de Tukey, cujos resultados são melhor visualizados quando representados em gráfico tipo colunas agrupados (Tabelas 47 e 49).

Em relação aos valores obtidos nos antebraços e na face das voluntárias, observou-se que as formulações F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) ocasionaram uma diminuição significativa na perda de água transepidérmica ( $p < 0,001$ ) após 15 e 30 dias de aplicação das formulações, quando comparados aos valores basais (Figuras 73A e 73B).

**Tabela 46** – Perda de água transepidermica da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 18.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	99,45	9,04	3,84	0,000
Resíduo	204	480,86	2,36		
Variação total	215	580,31			

**Tabela 47** – Perda de água transepidermica da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 18.

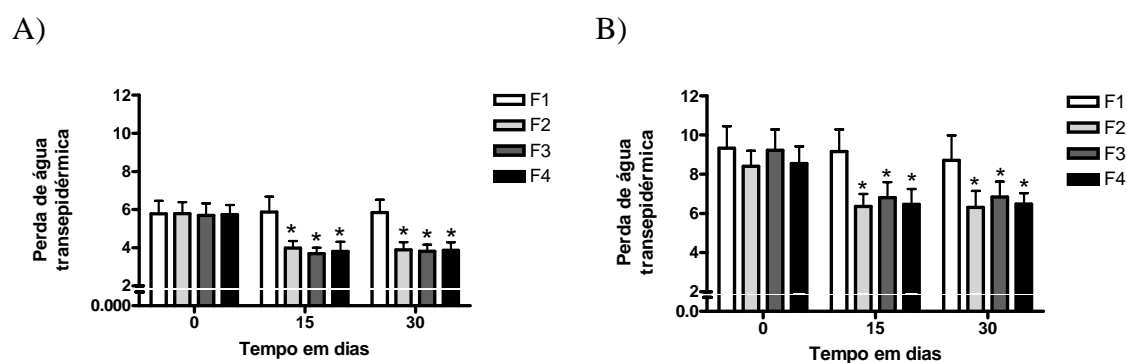
Tempo	Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
T 0 (inicial)	F1	5,839	
	F2	5,458	
	F3	5,138	
	F4	5,178	
T 15 dias	F1	6,039	
	F2	4,428	1,535
	F3	4,023	
	F4	4,144	
T 30 dias	F1	5,733	
	F2	4,556	
	F3	4,394	
	F4	4,361	

**Tabela 48** – Perda de água transepidermica da região da face – Análise de Variância, n = 15.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	100,78	9,16	8,82	0,000
Resíduo	168	1184,38	7,05		
Variação total	179	1285,16			

**Tabela 49** – Perda de água transepidermica da região da face – Teste de Tukey, n = 15.

Tempo	Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
T 0 (inicial)	F1	9,320	1,648
	F2	8,403	
	F3	9,213	
	F4	8,533	
T 15 dias	F1	9,147	
	F2	6,353	
	F3	6,800	
	F4	6,460	
T 30 dias	F1	8,700	
	F2	6,300	
	F3	6,840	
	F4	6,473	



**Figura 73** - Perda de água transepidermica da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol). \*Significativo em relação ao basal ( $p < 0,001$ ).

#### 6.4.2.2.1.4. Micro-relevo cutâneo

##### Se<sub>r</sub> – aspereza da pele

Os valores relacionados ao Se<sub>r</sub> (aspereza da pele) obtidos por profilometria óptica, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices P e Q respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao Se<sub>r</sub> (aspereza da pele), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados nas Tabelas 50 e 51.

Os valores obtidos de Se<sub>r</sub> (aspereza da pele), mostraram que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de Se<sub>r</sub> (aspereza da pele) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 e 30 dias da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de Se<sub>r</sub> que está relacionado com a aspereza da pele quando comparados com o veículo (Figuras 74A e 74B).

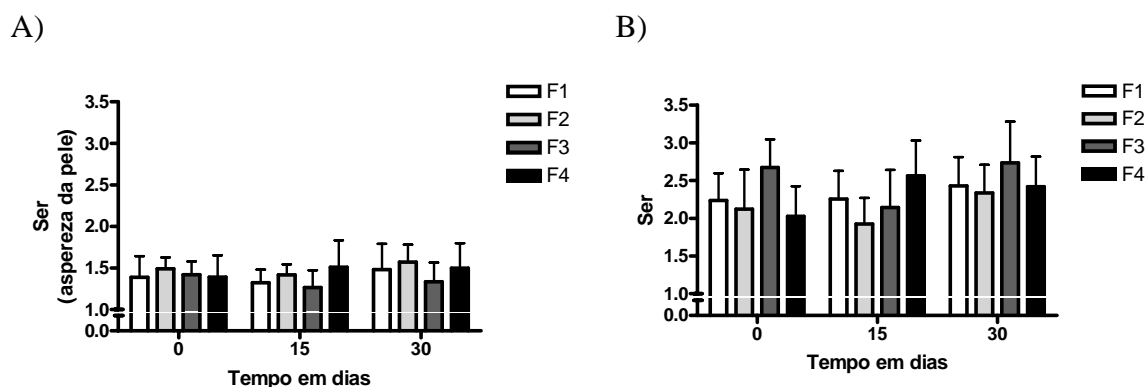
**Tabela 50** – Se<sub>r</sub> (aspereza da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 18.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	1,588	0,144	0,46	0,924
Resíduo	204	63,491	0,311		
Variação total	215	65,079			

**Tabela 51** – Se<sub>r</sub> (aspereza da pele) da região da face – Análise de Variância, n = 15.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	10,5	0,95	0,93	0,510
Resíduo	168	171,85	1,02		
Variação total	179	182,35			





**Figura 74** -  $Se_r$  da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

#### $Se_w$ – número de rugas

Os valores relacionados ao  $Se_w$  (número de rugas) obtidos por profilometria óptica, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices P e Q respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao  $Se_w$  (número de rugas), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados nas Tabelas 52 e 53.

Em relação aos valores de  $Se_w$  (número de rugas), observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de  $Se_w$  (número de rugas) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 e 30 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de  $Se_w$  que está relacionado com o número de rugas da pele quando comparados com o veículo (Figuras 75A e 75B).

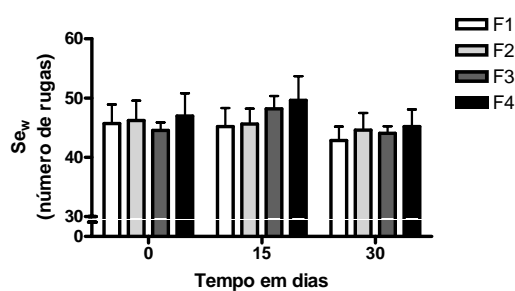
**Tabela 52**–  $Se_w$  (número de rugas) da região dos antebraços – Análise de Variância,  $n = 18$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	669,1	60,8	1,42	0,165
Resíduo	204	8727,0	42,8		
Varição total	215	9396,1			

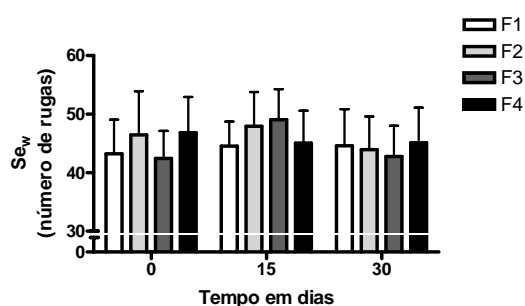
**Tabela 53** –  $Se_w$  (número de rugas) da região da face – Análise de Variância,  $n = 15$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	695	63	0,59	0,834
Resíduo	168	17926	107		
Varição total	179	18621			

A)



B)

**Figura 75** -  $Se_w$  (número de rugas) da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

**Se<sub>sm</sub> – textura da pele**

Os valores relacionados ao Se<sub>sm</sub> (textura da pele) obtidos por profilometria óptica, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices P e Q respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao Se<sub>sm</sub> (textura da pele), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados nas Tabelas 54 e 55.

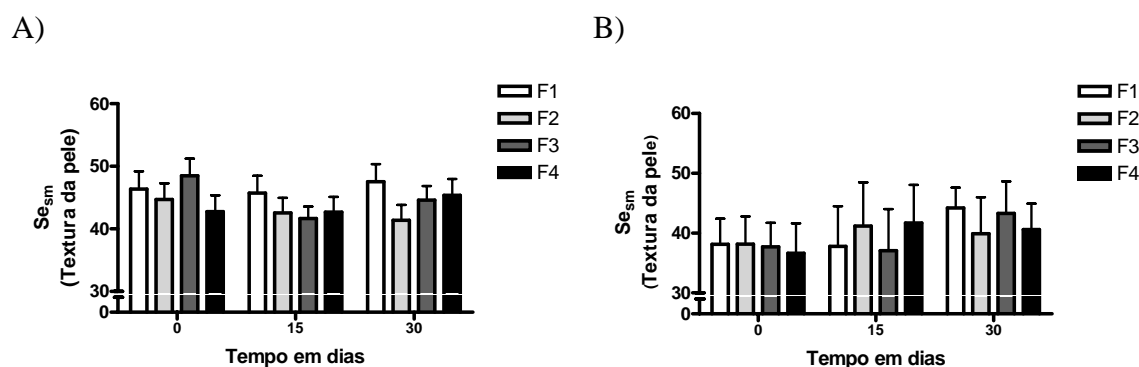
Em relação aos valores de Se<sub>sm</sub> (textura da pele), observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de Se<sub>sm</sub> (textura da pele) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 e 30 dias da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de Se<sub>sm</sub> que está relacionado com a textura da pele quando comparados com o veículo (Figuras 76A e 76B).

**Tabela 54** – Se<sub>sm</sub> (textura da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	1360	124	1,01	0,440
Resíduo	204	24990	122		
Variação total	215	26349			

**Tabela 55** – Se<sub>sm</sub> (textura da pele) da região da face – Análise de Variância, n = 17.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	1601	146	1,41	0,173
Resíduo	168	17372	103		
Variação total	179	18973			



**Figura 76** -  $Se_{sm}$  (textura da pele) da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

### $R_t$ – rugosidade

Os valores relacionados ao  $R_t$  (rugosidade) obtidos por profilometria óptica, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices P e Q respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao  $R_t$  (rugosidade), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados nas Tabelas 56 e 57.

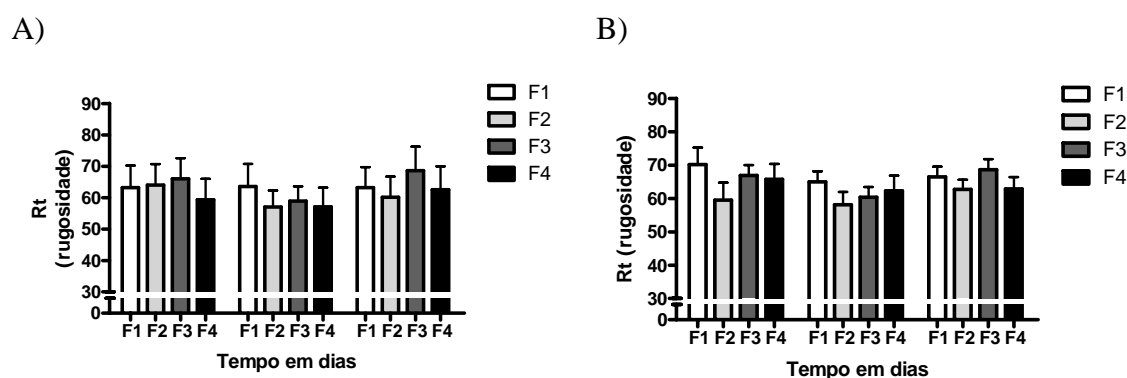
Em relação aos valores de  $R_t$  (rugosidade), observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de  $R_t$  (rugosidade) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 e 30 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de  $R_t$  que está relacionado com a rugosidade da pele quando comparados com o veículo (Figuras 77A e 77B).

**Tabela 56** –  $R_t$  (rugosidade) da região dos antebraços – Análise de Variância,  $n = 18$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	2497	227	1,30	0,228
Resíduo	204	35695	175		
Varição total	215	38193			

**Tabela 57** –  $R_t$  (rugosidade) da região da face – Análise de Variância, n = 15.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	2269	206	0,92	0,520
Resíduo	168	37539	223		
Variação total	179	39807			



**Figura 77** -  $R_t$  da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

#### 6.4.2.2.1.5. Propriedades mecânicas da pele por análise das características anisotrópicas

Os valores relacionados às propriedades mecânicas da pele obtidos por análise das características anisotrópicas, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices R e S respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados às propriedades mecânicas da pele, obtidos por análise das características anisotrópicas, estão apresentados nas Tabelas 58 e 59.

Em relação aos valores das propriedades mecânicas, observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nas características anisotrópicas da pele ( $p > 0,05$ ) quando

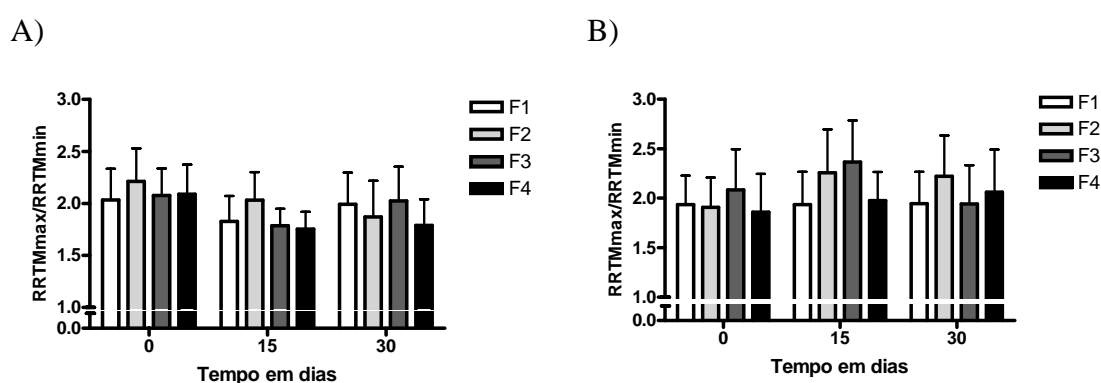
comparados aos valores basais, após 15 e 30 dias da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram as características anisotrópicas da pele quando comparados com o veículo (Figuras 78A e 78B).

**Tabela 58** – Propriedades mecânicas da pele na região dos antebraços – Análise de Variância, n = 18.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	3,475	0,496	1,86	0,081
Resíduo	136	36,304	0,267		
Variação total	143	39,779			

**Tabela 59** – Propriedades mecânicas da pele na região da face – Análise de Variância, n = 15.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	7	3,481	0,497	1,16	0,333
Resíduo	112	48,139	0,430		
Variação total	119	51,620			



**Figura 78** - Propriedades mecânicas da pele (RRTMmax/RRTMmin) na região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

#### 6.4.2.2.1.6. Índice de eritema

Os valores relacionados ao índice de eritema obtido antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços e na face das voluntárias, estão apresentados nos Apêndices T e U respectivamente.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao índice de eritema, obtidos pelo princípio da absorção de luz, estão apresentados nas Tabelas 60 e 61.

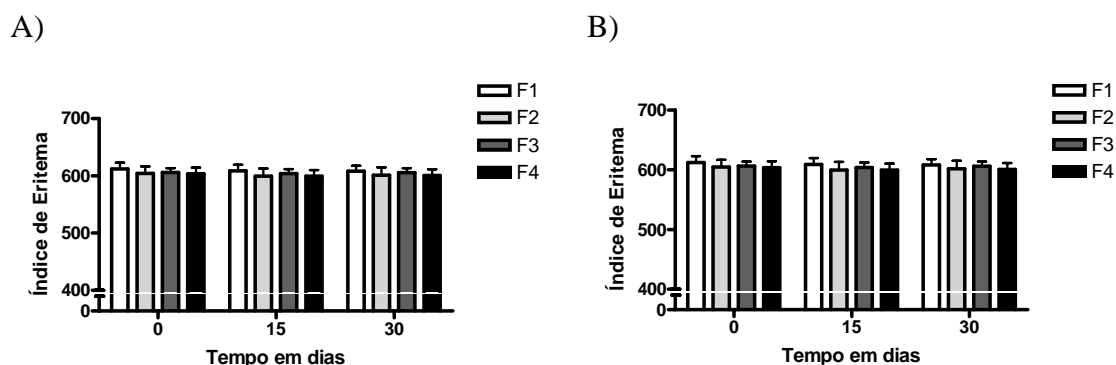
Em relação aos valores de índice de eritema, observou-se que todas as formulações objeto de estudo (acrescidas ou não de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) quando aplicadas nos antebraços e na face das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de índice de eritema ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 e 30 dias da aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações analisadas, ou seja, a adição das substâncias em estudo (extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol) não alteraram os valores de índice de eritema que está relacionado com a formação de eritema na pele quando comparados com o veículo (Figuras 79A e 79B).

**Tabela 60** – Índice de eritema da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 30.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	3144	286	0,64	0,797
Resíduo	208	93494	449		
Varição total	219	96638			

**Tabela 61** – Índice de eritema da região da face – Análise de Variância, n = 17.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	11	7922	720	1,05	0,407
Resíduo	168	115462	687		
Varição total	179	123383			



**Figura 79** - Índice de eritema da região dos antebraços (A) e da face (B) das voluntárias, antes e após 15 e 30 dias de aplicação das formulações em estudo, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol).

#### 6.4.2.2. Segunda fase dos estudos de avaliação por técnicas biofísicas e de análise de imagem.

##### 6.4.2.2.1. Avaliação dos efeitos das formulações em longo prazo

##### 6.4.2.2.1.1. Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidérmica (TEWL), do micro relevo cutâneo e das propriedades mecânicas da pele.

Os valores obtidos na determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo (Apêndice V), da perda de água transepidérmica (TEWL) (Apêndice W), do micro-relevo cutâneo (Apêndice X) e das propriedades mecânicas da pele (Apêndice Y), obtidos no tempo inicial (valores basais) e após 15 dias da aplicação das formulações objeto de estudo (efeitos em longo prazo), nos antebraços das voluntárias, foram submetidos à análise estatística descrita a seguir.

##### 6.4.2.2.1.1.1. Estudo estatístico dos resultados obtidos

Os dados experimentais obtidos na avaliação de cada parâmetro (conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidérmica - TEWL, do micro relevo cutâneo e das propriedades mecânicas da pele) nos antebraços das voluntárias, consistiram em 60 valores



para os antebraços, correspondentes ao cruzamento dos valores obtidos das 2 formulações (F4 e F7) e da região controle x 2 tempos (inicial e 15 dias) x 10 repetições, dando o produto fatorial  $3 \times 2 \times 10 = 60$ .

Com o objetivo de verificar se as amostras eram homogêneas e apresentavam uma distribuição normal, foram realizados testes estatísticos preliminares, a fim de decidir sobre que tipos de testes deveriam ser empregados (paramétricos ou não paramétricos).

Os testes estatísticos preliminares mostraram que as amostras testadas apresentaram-se homogêneas com uma distribuição de frequências normal, permitindo assim a utilização de teste paramétrico para análise dos dados.

O teste paramétrico que melhor se adaptou ao modelo experimental foi a Análise de Variância, utilizada para dados vinculados seguido do teste complementar de Tukey para a comparação de mais de duas amostras entre si.

#### **6.4.2.2.1.1.2. Conteúdo aquoso do estrato córneo**

Os valores do conteúdo aquoso do estrato córneo obtidos antes e após 15 dias de aplicação ou não (região controle) das formulações objeto de estudo nos antebraços das voluntárias, estão apresentados no Apêndice V.

Os resultados do teste estatístico (análise de variância) mostraram que as formulações objeto de estudo foram estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,001$ ), ou seja, comportaram-se de maneira diferente em relação aos tempos inicial e após 15 dias de aplicação das formulações e estão apresentados na tabela 62.

A fim de comparar quais médias eram diferentes entre si, foi realizado o teste de Tukey (Tabela 63), cujos resultados são melhor visualizados quando representados em gráfico tipo colunas agrupados.

Em relação aos valores obtidos, observou-se que as formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) quando aplicadas na região dos antebraços das voluntárias ocasionaram um aumento do conteúdo aquoso do estrato córneo ( $p < 0,001$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas na região controle (região que não recebeu aplicação das formulações) durante o período de estudo.

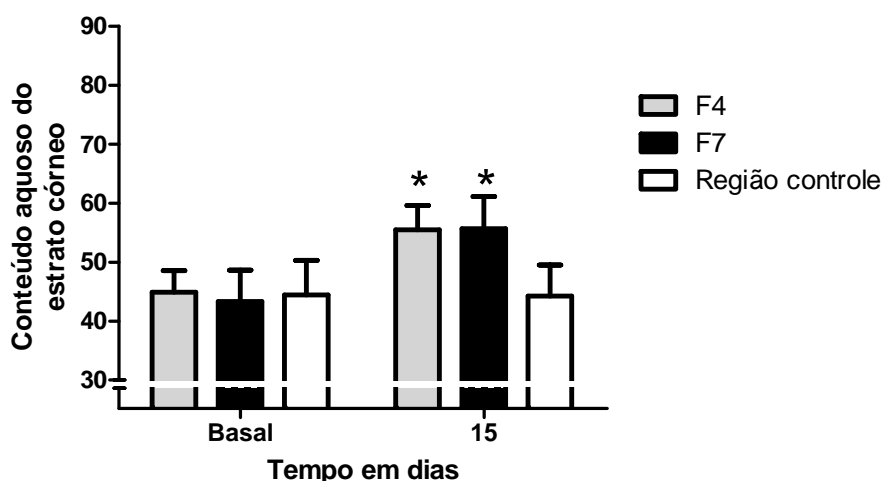
As formulações objeto de estudo, quando comparadas entre si, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, ou seja, a adição das substâncias ativas VCIP® - Tetraisopalmitato de ascorbila, e vitamina E D-Alfa Tocoferol Acetato não alteram os valores de umectação cutânea quando comparados com a formulação F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) (Figura 80).

**Tabela 62** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	5	1731,0	346,2	7,01	0,000
Resíduo	54	2666,5	5449,4		
Variação total	59	4397,5			

**Tabela 63** – Conteúdo aquoso do estrato córneo da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 10.

Tempo	Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
T 0 (inicial)	F4	44,869	7,027
	F7	43,320	
	Região controle	44,441	
T 15 dias	F4	55,460	7,027
	F7	55,675	
	Região controle	44,236	



**Figura 80** - Conteúdo aquoso do estrato córneo da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato).

\*Significativo em relação ao basal ( $p < 0,001$ ).

#### 6.4.2.2.1.1.3. Perda de água transepidermica (TEWL)

Os valores da perda de água transepidermica obtidos antes e após 15 dias de aplicação das formulações objeto de estudo nos antebraços das voluntárias estão apresentados nos Apêndice W.

Os resultados do teste estatístico (análise de variância) mostraram que as formulações objeto de estudo foram estatisticamente diferentes entre si ( $p < 0,001$ ), ou seja, comportaram-se de maneira diferente em relação aos tempos inicial e após 15 dias de aplicação das formulações e estão apresentados na tabela 64.

A fim de comparar quais médias eram diferentes entre si, foi realizado o teste de Tukey, cujos resultados são melhor visualizados quando representados em gráfico tipo colunas agrupados (Tabela 65).

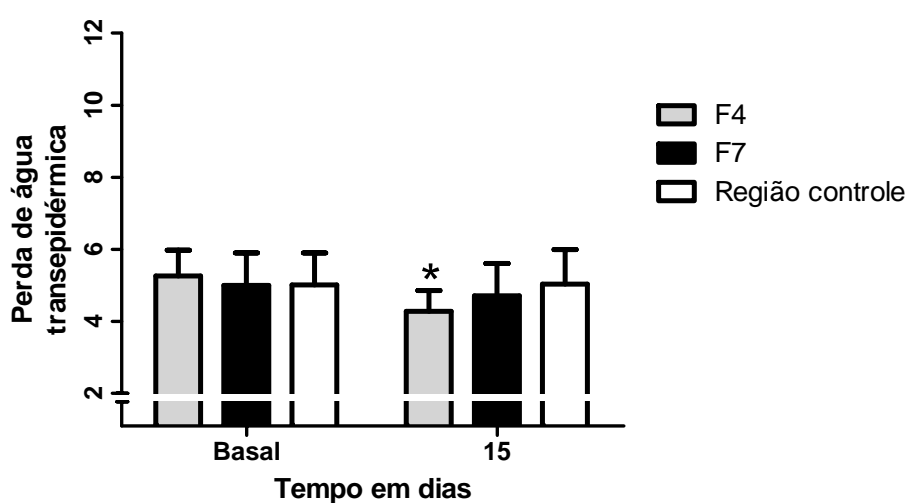
Em relação aos valores obtidos, observou-se que a formulação F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) quando aplicada na região dos antebraços das voluntárias ocasionou uma diminuição da perda de água transepidermica ( $p < 0,001$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que a formulação F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) e as medidas realizadas na região controle não apresentaram diferenças estatisticamente significativas durante o período de estudo. (figura 81)

**Tabela 64**– Perda de água transepidérmica (TEWL) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	5	13,378	2,676	3,04	0,017
Resíduo	54	47,548	0,881		
Varição total	59	60,926			

**Tabela 65** – Perda de água transepidérmica (TEWL) da região dos antebraços – Teste de Tukey, n = 10.

Tempo	Formulação	Média	Valor crítico de Tukey 0,1%
T 0 (inicial)	F4	5,462	0,938
	F7	5,298	
	Região controle	5,214	
T 15 dias	F4	4,078	
	F7	4,711	
	Região controle	5,237	

**Figura 81** - Perda de água transepidérmica (TEWL) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP® - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato).

#### 6.4.2.2.1.1.4. Determinação das propriedades mecânicas da pele por análise da viscoelasticidade da pele

##### Ur/Ue - Elasticidade líquida

Os valores relacionados a razão Ur/Ue (elasticidade líquida) obtidos pelo método de deformação da pele em resposta à sucção, antes e após 15 dias de aplicação das formulações objeto de estudo e da região controle nos antebraços das voluntárias, estão apresentados no Apêndice X.

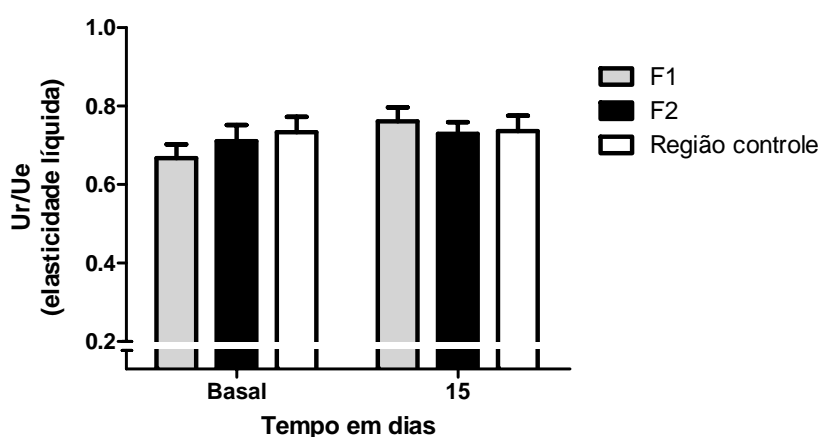
Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados a razão Ur/Ue (elasticidade líquida), estão apresentados na Tabela 66.

Em relação aos valores de Ur/Ue (elasticidade líquida) observou-se que as formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) quando aplicadas na região dos antebraços das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de Ur/Ue (elasticidade líquida) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas na região controle durante o período de estudo.

As formulações objeto de estudo, quando comparadas entre si, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, ou seja, a adição das substâncias ativas VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, e vitamina E D-Alfa Tocoferol Acetato não alteraram os valores de Ur/Ue que está relacionado elasticidade da pele quando comparados com a formulação F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) (Figura 82).

**Tabela 66** – Ur/Ue (elasticidade líquida) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	5	0,0507	0,0101	0,75	0,588
Resíduo	54	0,7272	0,0135		
Variação total	59	0,7779			



**Figura 82** - Ur/Ue (elasticidade líquida) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato).

#### Uv/Ue – Viscoelasticidade da pele

Os valores relacionados a razão Uv/Ue (viscoelasticidade da pele) obtidos pelo método de deformação da pele em resposta à sucção, antes e após 15 dias de aplicação das formulações objeto de estudo e da região controle nos antebraços das voluntárias, estão apresentados no Apêndice X.

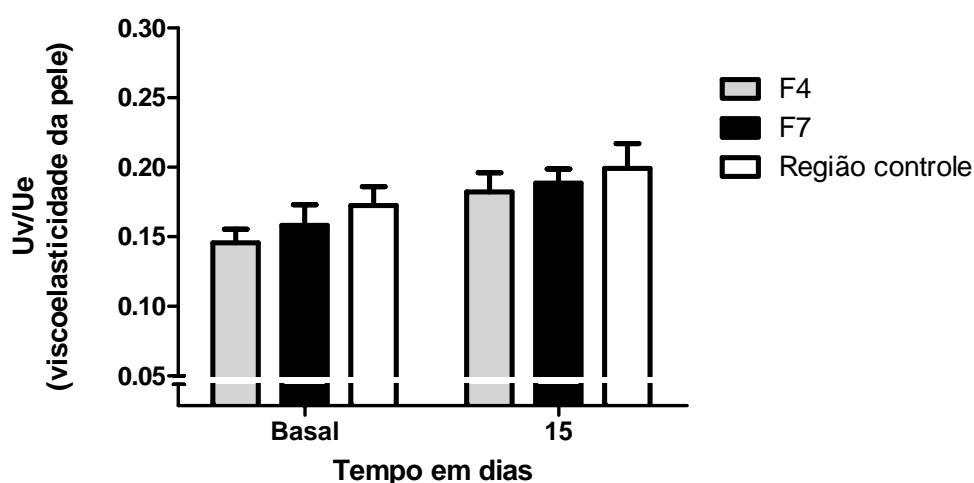
Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados a razão Uv/Ue (viscoelasticidade da pele), estão apresentados na Tabela 67.

Em relação aos valores de Uv/Ue (viscoelasticidade da pele) observou-se que as formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) quando aplicadas na região dos antebraços das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de Uv/Ue (viscoelasticidade da pele) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas na região controle durante o período de estudo.

As formulações objeto de estudo, quando comparadas entre si, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, ou seja, a adição das substâncias ativas VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, e vitamina E D-Alfa Tocoferol Acetato não alteraram os valores de Uv/Ue que está relacionado viscoelasticidade da pele quando comparados com a formulação F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) (Figura 83).

**Tabela 67** – R6 da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	5	0,01965	0,00393	2,10	0,079
Resíduo	54	0,10092	0,00187		
Varição total	59	0,12057			



**Figura 83** - Uv/Ue (viscoelasticidade da pele) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato).

#### 6.4.2.2.1.. Micro-relevo cutâneo

##### Se<sub>r</sub> (aspereza da pele)

Os valores relacionados ao Se<sub>r</sub> (aspereza da pele) obtidos por profilometria óptica, antes e após 15 dias de aplicação das formulações objeto de estudo, e da região controle nos antebraços, estão apresentados no Apêndice Y.

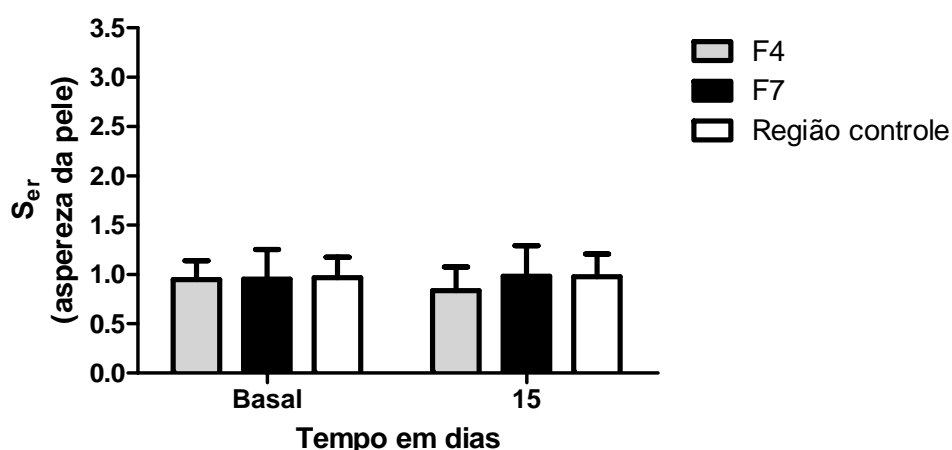
Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao Se<sub>r</sub> (aspereza da pele), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados na Tabela 68.

Em relação aos valores de  $Se_r$  (aspereza da pele) observou-se que as formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) quando aplicadas na região dos antebraços das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de  $Se_w$  (número de rugas) ( $p>0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas na região controle durante o período de estudo.

As formulações objeto de estudo, quando comparadas entre si, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, ou seja, a adição das substâncias ativas VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, e vitamina E D-Alfa Tocoferol Acetato não alteraram os valores de  $Se_r$  que está relacionado com a aspereza da pele quando comparados com a formulação F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) (Figura 84).

**Tabela 68** – $Se_r$  (aspereza da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	5	0,148	0,030	0,24	0,943
Resíduo	54	6,665	0,123		
Varição total	59	6,813			



**Figura 84** -  $Se_r$  (aspereza da pele) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato).



**Se<sub>w</sub> (número de rugas)**

Os valores relacionados ao Se<sub>w</sub> (número de rugas) obtidos por profilometria óptica, antes e após 15 dias de aplicação das formulações objeto de estudo, e da região controle nos antebraços, estão apresentados no Apêndice Y.

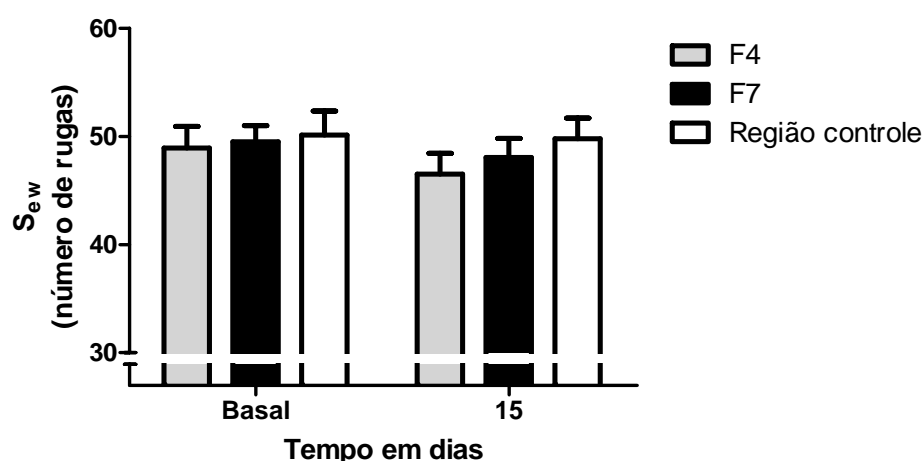
Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao Se<sub>w</sub> (número de rugas), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados na tabela 69.

Em relação aos valores de Se<sub>w</sub> (número de rugas) observou-se que as formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) quando aplicadas na região dos antebraços das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de Se<sub>w</sub> (número de rugas) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas na região controle durante o período de estudo.

As formulações objeto de estudo, quando comparadas entre si, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, ou seja, ou seja, a adição das substâncias ativas VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, e vitamina E D-Alfa Tocoferol Acetato não alteraram os valores de Se<sub>w</sub> que está relacionado com o número de rugas da pele quando comparados com a formulação F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) (Figura 85).

**Tabela 69** – Se<sub>w</sub> (número de rugas) da região dos antebraços – Análise de Variância, n = 10.

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	5	90,1	18,0	0,50	0,777
Resíduo	54	1951,8	36,3		
Variação total	59	2047,9			



**Figura 85** -  $Se_w$  (número de rugas) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato).

#### $Se_{sm}$ (textura da pele)

Os valores relacionados ao  $Se_{sm}$  (textura da pele) obtidos por profilometria óptica, antes e após 15 dias de aplicação das formulações objeto de estudo, e da região controle nos antebraços, estão apresentados no Apêndice Y.

Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao  $Se_{sm}$  (textura da pele), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados na Tabela 70.

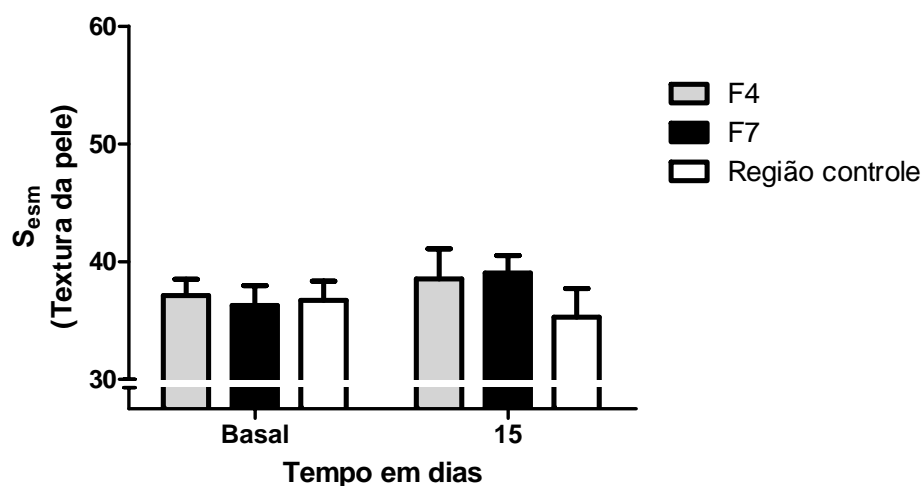
Em relação aos valores de  $Se_{sm}$  (textura da pele) observou-se que as formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) quando aplicadas na região dos antebraços das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de  $Se_{sm}$  (textura da pele) ( $p > 0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas na região controle durante o período de estudo.

As formulações objeto de estudo, quando comparadas entre si, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, ou seja, ou seja, a adição das substâncias ativas Tetraisopalmitato de ascorbila, e vitamina E D-Alfa Tocoferol Acetato não alteraram os valores de  $Se_{sm}$  que está relacionado com a textura da pele quando comparados com a

formulação F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) (Figura 86).

**Tabela 70** –  $Se_{sm}$  (Textura da pele) da região dos antebraços – Análise de Variância,  $n = 10$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	5	99,0	19,8	0,54	0,747
Resíduo	54	1988,1	36,8		
Varição total	59	2087,0			



**Figura 86** -  $Se_{sm}$  (Textura da pele) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP® - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato).

### **$R_t$ – rugosidade**

Os valores relacionados ao  $R_t$  (rugosidade) obtidos por profilometria óptica, antes e após 15 dias de aplicação das formulações objeto de estudo, e da região controle nos antebraços, estão apresentados no Apêndice Y.

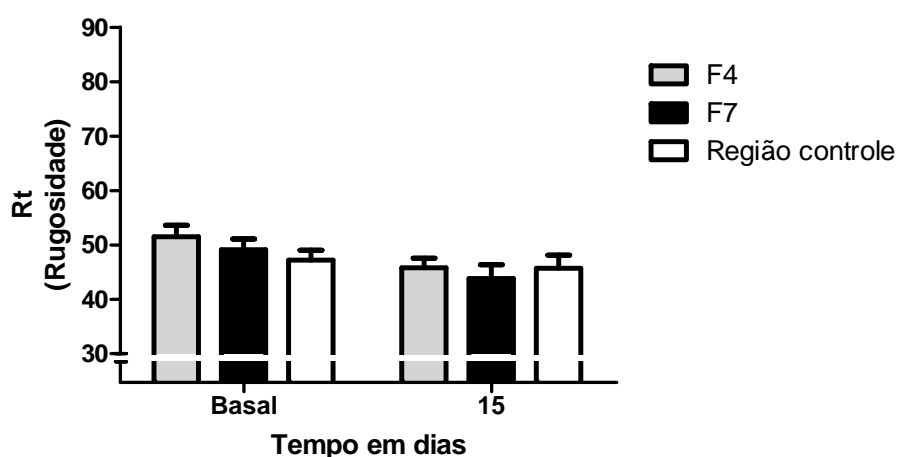
Os resultados do teste Análise de Variância para os valores relacionados ao  $R_t$  (rugosidade), obtidos por profilometria óptica, estão apresentados na Tabela 71.

Em relação aos valores de  $R_t$  (rugosidade), observou-se que as formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) quando aplicadas na região dos antebraços das voluntárias não ocasionaram alterações significativas nos valores de  $R_t$  (rugosidade) ( $p>0,05$ ) quando comparados aos valores basais, após 15 dias de aplicação das formulações. Observou-se ainda que não houve diferenças estatisticamente significativas na região controle durante o período de estudo.

As formulações objeto de estudo, quando comparadas entre si, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, ou seja, ou seja, a adição das substâncias ativas VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, e vitamina E D-Alfa Tocoferol Acetato não alteraram os valores de  $R_t$  que está relacionado com a rugosidade da pele quando comparados com a formulação F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) (Figura 87).

**Tabela 71** –  $R_t$  (rugosidade) da região dos antebraços – Análise de Variância,  $n = 10$ .

Fonte de Variação	Soma de Quadr	G.L	Quadr.Médios	(F)	Prob.(H0)
Entre colunas	5	378,7	75,7	1,69	0,153
Resíduo	54	2420,3	44,8		
Variação total	59	2799,0			



**Figura 87** -  $R_t$  (rugosidade) da região controle e da região dos antebraços das voluntárias, antes e após 15 dias de aplicação das formulações F4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-Pantenol, VCIP<sup>®</sup> - Tetraisopalmitato de ascorbila, vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato).

## ***7. DISCUSSÃO***

---

No desenvolvimento de formulações em geral deve-se levar em consideração, dentre outros, o tipo de formulação, a finalidade de uso, o tipo de pele e a compatibilidade entre as possíveis substâncias ativas a serem acrescidas nestas, o que leva à necessidade de estudos de estabilidade e avaliação de eficácia e segurança de uso.

Considerando que a tendência atual em termos de formulação é a veiculação de diversas substâncias ativas num mesmo produto, visando o sinergismo de efeitos, é de grande importância avaliar se, de fato, a associação de substâncias ativas pode causar benefícios significativos na melhora das condições da pele. Dentre as possíveis associações, os polissacarídeos de origem vegetal extraído da planta *Myrtus communis* e as vitaminas, como o D-pantenol, e as vitaminas C e E, poderiam conferir à formulação ação hidratante, protetora da função barreira da pele, anti-radicaís livres e ainda atuar na renovação celular e na síntese de colágeno da pele.

O extrato hidrolisado de *Myrtus communis* apresenta uma composição rica em compostos polifenólicos (YOSIMURA et al., 2008), o que lhe confere propriedades antioxidantes, sendo portanto um ativo potencial para a elaboração de formulações cosméticas com propriedades protetora e antienvelhecimento da pele.

Assim, considerando as propriedades acima descritas do extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, este poderia conferir diferentes benefícios à pele, sendo de fundamental importância a avaliação da estabilidade e da eficácia clínica de formulações cosméticas contendo *Myrtus communis*, bem como avaliar o potencial antioxidante *in-vitro* deste extrato vegetal. O método de quimioluminescência dependente de luminol-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-HRP; tem sido um dos mais utilizados na atualidade por ser rápido, confiável e eficaz na determinação da capacidade de alguns antioxidantes em neutralizar radicaís livres (CHENG et al., 2003).

Os dados obtidos no estudo de avaliação do potencial antioxidante *in vitro* demonstraram que, comparado ao controle, o extrato vegetal em estudo possui uma atividade antioxidante pronunciada. Por meio do gráfico de porcentagem de inibição da formação dos radicaís livres em função da concentração do extrato, pôde-se calcular o IC<sub>50</sub>, igual a 0,45 mg/mL, que corresponde à concentração de extrato necessária para inibir 50% dos radicaís livres presentes na solução (CHENG et al., 2003).

Estudos demonstram que os principais componentes responsáveis por essa atividade antioxidante são os polifenóis, dentre eles os flavonóides (ATOUI et al, 2003).

Assim, o emprego do extrato hidrolisado de *Myrtus communis* em formulações cosméticas com finalidade antienvelhecimento pode ser justificado pelo seu potencial

antioxidante, efeito esse de grande importância em cosméticos para a proteção e prevenção de danos na pele, como também por outros mecanismos já descritos.

No entanto, deve-se considerar que o comportamento antioxidante do extrato isolado é diferente do extrato adicionado à formulação, devido aos outros componentes da mesma, que podem agir em sinergismo (aumentando a atividade antioxidante) ou antagonismo (diminuindo a atividade antioxidante).

Para o desenvolvimento de uma formulação cosmética estável, segura e eficaz, é fundamental a escolha adequada das matérias-primas que farão parte da sua composição, ou seja, estas devem ser compatíveis entre si e com as substâncias ativas selecionadas para atender a indicação de uso do produto, o que leva à necessidade de estudos de estabilidade e avaliação de eficácia e segurança de uso.

Considerando a importância das vitaminas em formulações cosméticas, inicialmente foram elaboradas 4 formulações de géis creme acrescidas ou não (F1- veículo), de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* (F2), de D-pantenol (F3) e de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol (F4).

As 4 formulações estudadas apresentaram valores de pH levemente ácidos, sendo esta faixa de pH obtida, ideal para as finalidades propostas, inclusive por que em pH próximo de 6,0 o D-pantenol apresenta maior estabilidade (IDSON, 1993). A avaliação de pH é importante tanto para a estabilidade da formulação, quanto para a compatibilidade da mesma com o manto ácido da pele (RODRIGUES, 1997).

As formulações desenvolvidas mostraram-se estáveis frente aos testes preliminares de estabilidade, pois não foram observadas alterações do tipo: cor, odor ou separação de fases e homogeneidade após estocagem no ambiente e a  $37 \pm 1$  e  $45 \pm 1$  °C, durante o período de 7 dias, o que pode ser um indicativo de que estas formulações provavelmente não apresentarão problemas futuros de estabilidade (KLEIN, 1999).

O estudo do comportamento reológico das formulações objeto de estudo pode ser avaliado por meio dos reogramas (Figuras 12 a 23) e dos valores de viscosidade aparente mínima (Tabela 6 e Figuras 24 a 26), índice de consistência (Tabela 7 e Figuras 27 a 29) e índice de fluxo, (Tabela 8 e Figuras 30 a 32), obtidos ao longo do período de 28 dias.

Durante o período de análise, os reogramas das formulações objeto de estudo não apresentaram alterações, tais como picos de instabilidade. As formulações de nº 1 (veículo) e nº 3 (veículo acrescido de D-pantenol) apresentaram os maiores valores de viscosidade aparente mínima (calculados a partir do ponto máximo de cisalhamento), e não apresentaram muitas oscilações no decorrer do estudo. Já as formulações nº 2 (veículo acrescido de extrato

hidrolisado de *Myrtus communis*) e nº 4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) apresentaram valores menores de viscosidade aparente mínima e um número maior de oscilações desses valores, quando comparadas com as formulações de nº 1 e 3 que não foram acrescidas de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* (Tabela 6 e Figuras 24 a 26).

A viscosidade aparente mínima é considerada a medida da resistência de um material ao fluxo, sendo que, quanto maior a viscosidade, maior é a resistência. (MARTIN; BUSTAMANTE; CHUN, 1993). Em formulações pseudoplásticas, um valor de viscosidade aparente pode ser obtido em função de qualquer um dos pontos de cisalhamento, com isso, o valor de índice de consistência, obtido pelo gráfico de gradiente de cisalhamento x tensão de cisalhamento, é o mais indicado para representar este tipo de formulação, sendo assim este parâmetro foi também considerado no presente estudo.

Em relação ao índice de consistência, as formulações apresentaram resultados semelhantes aos obtidos na avaliação da viscosidade aparente mínima, as formulações de nº 1 (veículo) e nº 3 (veículo acrescido de D-pantenol), apresentaram os maiores valores de índice de consistência e as formulações nº 2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*) e nº 4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) apresentaram valores menores de índice de consistência, e as formulações que foram armazenadas a 45°C, apresentaram maiores oscilações (Tabela 7 e Figuras 27 a 29).

Todas as formulações estudadas apresentaram comportamento pseudoplástico, ou seja, índice de fluxo menor que 1 o que é bastante interessante em produtos cosméticos por facilitar a sua aplicação e o espalhamento e, assim, conferir um sensorial agradável (MARTIN; BUSTAMANTE; CHUN, 1993). As formulações estudadas não apresentaram grandes variações nos valores de índice de fluxo (Tabela 8 e Figuras 30 a 32).

Assim, a análise do conjunto das variáveis que fazem parte da avaliação do comportamento reológico (perfil dos reogramas, valores de viscosidade aparente, índice de fluxo e índice de consistência) obtidos no decorrer do estudo, mostrou que todas as formulações objeto de estudo foram consideradas estáveis, pois não apresentaram grandes variações nos parâmetros analisados e foram então selecionadas para os testes de avaliação primária de compatibilidade cutânea.

Para tal, foi realizado um teste de primário de compatibilidade cutânea em voluntários humanos com a aplicação de um *patch* sob condições de oclusão, que facilitam a penetração dos ingredientes dos produtos na pele. Nesse teste, todas as formulações avaliadas demonstraram compatibilidade cutânea muito boa, pois nenhum voluntário apresentou reação



de irritação cutânea primária após a retirada dos apósitos (FISCHER, 1995). Sendo assim, essas formulações foram consideradas seguras para uso cosmético e utilizadas nos estudos de avaliação sensorial e de eficácia a curto e em longo prazo, empregando-se técnicas de biofísica e análise de imagem, que são métodos que permitem a avaliação da eficácia de um produto cosmético nas reais condições de uso. (DARLENSKII, et al., 2009).

A avaliação sensorial tem grande importância no desenvolvimento de um produto cosmético, pois, a aceitação do consumidor frente às características sensoriais de uma formulação pode influir de maneira fundamental na escolha do produto (GOMES et al., 1998). Neste sentido, a análise sensorial juntamente com um correto delineamento experimental, pode garantir o sucesso de um produto cosmético (TACHINARDI et al., 2005), o qual deve ser agradável ao consumidor, apresentando um sensorial diferenciado.

A partir da análise sensorial realizada foi possível verificar que a formulação 4 foi à formulação que apresentou maior aceitação pelas voluntárias, ou seja, a associação do extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol melhorou as características sensoriais da formulação (Figuras 61 a 63).

Após a avaliação da compatibilidade cutânea das formulações e da avaliação sensorial, foram realizados os estudos de avaliação da eficácia das formulações objeto.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, quando é atribuído um benefício específico a uma formulação cosmética, é necessária a comprovação de sua eficácia. Nesse sentido, as técnicas de biofísica e análise de imagem da pele têm ocupado uma posição de destaque para a avaliação da eficácia de formulações, pois consistem na determinação das características biológicas, mecânicas e funcionais da pele por meio de métodos objetivos e não invasivos (DARLENSKI et al., 2009; PAYE et al., 2007; DOBREV, 2000). Sendo assim, estes métodos foram os de escolha para cumprirmos os objetivos propostos.

A região interna dos antebraços e a face, das voluntárias foram às regiões corporais escolhidas para a realização do referido estudo, pois as mesmas têm sido amplamente empregadas para a avaliação da eficácia de produtos cosméticos (PAYE et al., 2007; VERTUANI et al., 2003; FUJIMURA et al., 2002; LEONARDI; GASPARI; MAIA CAMPOS, 2002; LEE, CHOI, 1999;). A pele da face é uma região muito indicada para a avaliação de produtos antienvhecimento, pois, considerando que é mais vulnerável à ação do fotoenvhecimento, representa a principal área de interesse na aplicação desses produtos cosméticos (TAKEMA et al., 1994). Por outro lado, por ser protegida da radiação UV, a região anterior dos antebraços reflete os efeitos do envelhecimento cronológico (intrínseco) da

pele (ROBERT; ROBERT; ROBERT, 2003) e tem sido muito utilizada nos estudos de eficácia por apresentar uma série de vantagens como facilidade de aplicação e avaliação, comprometimento dos voluntários ao estudo e por haver, nessa região, menor interferência das condições ambientais e do estilo de vida (SUMINO et al., 2004). Assim, optamos por avaliar ambas as regiões citadas para verificar uma possível diferença de ação das formulações em cada uma delas (TAKEMA et al., 1994).

A avaliação dos efeitos imediatos de produtos cosméticos é de grande importância, uma vez que permite verificar a ação destes produtos na pele logo após a sua aplicação, como por exemplo, alteração na umectação cutânea ou na função barreira da pele.

Os resultados obtidos na avaliação do conteúdo aquoso do estrato córneo mostraram que após 3 horas da aplicação de todas as formulações objeto de estudo, aumentaram a umectação cutânea nas regiões dos antebraços e da face. Assim, a composição das formulações desenvolvidas foi escolhida adequadamente, uma vez que o efeito hidratante é fundamental após a aplicação de uma formulação cosmética para a manutenção da eudermia, ou seja, das condições de normalidade da pele (BURACZEWSKA et al., 2007).

Os resultados da avaliação da perda de água transepidérmica mostraram que somente as formulações acrescidas de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-pantenol reduziram a perda de água transepidérmica na pele dos antebraços e, na face, somente as que continham D- pantenol (F3 e F4), quando comparado com os valores basais, enquanto que o veículo não provocou alterações nestes valores, sugerindo que os ativos objetos de estudo apresentaram efeito na função barreira da pele. De acordo com Camargo Junior, Gaspar e Maia Campos (2007), formulações contendo D-pantenol em diferentes concentrações, mostraram efeito protetor na função barreira da pele por redução significativa da TEWL. Assim, a associação de D-pantenol à formulação contendo *Myrtus communis*, aumentou o efeito protetor da função barreira da pele, ou seja, estas substâncias ativas mostraram sinergismo de efeitos na hidratação e proteção da pele.

Na avaliação do micro-relevo cutâneo, o qual permite a avaliação quali e quantitativa da superfície da pele nas condições fisiológicas (KOH et al. 2002; DE PAEPE et al., 2000), as formulações objeto de estudo não ocasionaram alterações significativas nos parâmetros avaliados durante o período de estudo, não proporcionando, portanto, um efeito imediato na melhora do micro relevo da pele.

Apenas em relação ao parâmetro  $Se_{sm}$  (textura e maciez da pele), o qual o pode estar relacionado à hidratação na epiderme viável, foi possível observar uma tendência no aumento

dos valores do mesmo, compatível com o efeito hidratante pronunciado das formulações objeto de estudo.

As formulações objeto de estudo não provocaram alterações significativas no parâmetro  $R_t$  (rugosidade) após 3 horas de aplicação na região dos antebraços e da face, quando comparados aos valores basais (Figura 64).

A aplicação das formulações objeto de estudo, nos antebraços e na face das voluntárias, não provocou alterações na anisotropia da pele ( $RRT_{max}/RRT_{min}$ ), após 3 horas da aplicação das formulações objeto de estudo, quando comparados aos valores basais. Segundo Ruvolo, Stamatas e Kollias (2007) a diminuição dos valores da anisotropia da pele ( $RRT_{max}/RRT_{min}$ ) poderia indicar melhora do tônus e firmeza da pele, uma vez que a velocidade das ondas sonoras é diretamente proporcional a tensão e densidade do meio, ou seja, quanto maior a tensão da pele menor será a anisotropia da pele, este efeito também pode ser atribuído a hidratação da pele, uma vez que a velocidade propagação das ondas é diretamente proporcional a quantidade de água na pele (RUVOLO; KOLLIAS; COLE, 2006).

Em relação ao estudo em longo prazo, as formulações objeto de estudo também provocaram um aumento significativo do conteúdo aquoso do estrato córneo, após 15 e 30 dias de aplicação em relação aos valores basais, melhorando a umectação cutânea na região dos antebraços e na face das voluntárias. Com isso, foi possível observar que os resultados obtidos no estudo em curto prazo, foram semelhantes aos resultados obtidos no estudo em longo prazo, ou seja, o efeito hidratante é mantido com o uso contínuo das formulações sendo de grande importância para a manutenção da fisiologia cutânea (BURACZEWSKA et al., 2007).

Conforme descrito anteriormente este efeito pode ter ocorrido em função da composição das formulações, as quais foram constituídas por matérias-primas como os umectantes e silicones que podem proporcionar uma hidratação significativa para a pele. Além disso, o extrato hidrolisado de *Myrtus communis* um dos ativos estudados, tem uma composição rica em açúcares tais como a frutose, que apresentam propriedades higroscópicas (SANDO et al., 2003) o que poderia aumentar a hidratação imediata na pele. Já o D-pantenol, quando utilizado devido a suas características higroscópicas (IDSON, 1993), pode proporcionar um efeito umectante a pele.

A avaliação da perda de água transepidérmica nos antebraços e na face das voluntárias mostrou que após 15 e 30 dias de aplicação das formulações estudadas, somente as formulações acrescidas de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e/ou D-patenol reduziram a perda de água transepidérmica, quando comparado com os valores basais, enquanto que o

veículo não provocou alterações nestes valores. Assim, os ativos objetos de estudo apresentaram efeito significativo na melhora da função barreira da pele. Os resultados desse estudo foram semelhantes aos obtidos na avaliação em curto prazo, em relação à pele da região interna dos antebraços, porém, em relação à face, região mais exposta a radiação UV e condições climáticas, apenas no estudo a longo prazo a formulação F2, que continha apenas o extrato *Myrtus communis*, apresentou efeito significativo na redução da TEWL. Os referidos resultados mostram mais uma vez a importância da associação das substâncias ativas objeto de estudo para a potencialização dos efeitos protetores na pele, principalmente para a obtenção de efeitos imediatos, em curto prazo de uso.

Alguns autores relatam que o extrato hidrolisado de *Myrtus communis* pode melhorar a comunicação celular, uma vez que altera a expressão de moléculas (caveolina-1) em células senescentes, o que aumenta a sua capacidade proliferativa (PARK et al., 2000) e podem ainda atuar na função barreira da pele, uma vez que as caveolinas estão relacionadas com a organização e função de grânulos lamelares presentes na camada granulosa (SANDO et al., 2003).

Já os resultados obtidos com as formulações acrescidas D-pantenol estão de acordo com outros estudos, tais como os realizados por Camargo Junior (2006) e Gehring e Gloor (2000) que mostraram os efeitos desta substância na perda de água transepidermica. Vários outros efeitos do D-pantenol, relacionados com a proteção da função barreira da pele, tais como, auxílio na cura de feridas, queimaduras, fissuras, lesões córneas ulcerativas e dermatites alérgicas podem ser encontrados na literatura (IDSON, 1993; PAOLA et al. 1998), ou seja, o D-pantenol, em função das suas propriedades farmacodinâmicas na pele, é um composto importante para ser adicionado a formulações para os cuidados da pele.

As aplicações das formulações objeto de estudo, nos antebraços e na face das voluntárias, não provocaram alterações na anisotropia da pele ( $RRTM_{max}/RRTM_{min}$ ), após 15 e 30 dias de aplicação das formulações objeto de estudo, quando comparados aos valores basais, ou seja, durante o período de estudo as formulações não apresentaram efeito significativo na melhora da firmeza da pele (RUVOLO; KOLLIAS; COLE, 2007; UHODA et al., 2002).

Finalizando, na avaliação sensorial, a formulação F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) foi à formulação que obteve melhor aceitação pelas voluntárias comparando-se às demais e apresentou estabilidade adequada e eficácia (efeitos imediatos e em longo prazo), comprovada por meio de ensaios clínicos, na hidratação e melhora da função barreira da pele.

Considerando que a formulação F4 apresentou os melhores resultados na avaliação sensorial, bem como proporcionou melhora na hidratação e na função barreira da pele, este estudo teve ainda como proposta avaliar a influência da adição dos derivados de vitaminas C e E nesta formulação, a fim de obter um produto multifuncional, ou seja, alto poder hidratante, protetor da função barreira da pele, anti-radicaís livres e ainda podendo atuar na renovação celular e na prevenção do envelhecimento cutâneo.

Para tal, foram elaboradas três formulações, tendo como base a formulação 4 (formulação acrescida de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol), acrescidas dos derivados de vitaminas C e/ou E (Tetraisopalmitato de ascorbila e/ou vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato, respectivamente).

Uma vez que, a associação de substâncias ativas com diferentes propriedades em uma formulação cosmética pode prejudicar a estabilidade e alterar as características reológicas da mesma (LEONARDI; MAIA CAMPOS, 2001; LEONARDI, 2004), foi de grande importância a realização de estudos de avaliação de estabilidade e do comportamento reológico de formulações acrescidas de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e do complexo vitamínico (pantenol e derivados de vitaminas C e E) objeto de estudo. Por meio desses estudos, é possível compreender melhor a natureza físico-química do veículo na fase de desenvolvimento, controlar a qualidade de matérias-primas e produtos acabados, e ainda, verificar o efeito da consistência do produto na sua performance, permitindo também detectar possíveis instabilidades que possam ocorrer na formulação durante o período de estocagem, podendo assim contribuir na previsão do prazo de validade da mesma (ZANATA, et al., 2010; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003b; BRUMMER; GODERSKY, 1999; CALLEGOS, 1999; FOSTER; HERRINGTON, 1998; MARTIN; BUSTAMANTE; CHUN, 1993; LABA, 1993).

As 4 formulações de géis creme elaboradas nesta etapa do estudo foram: F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol), F5 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Tetraisopalmitato de ascorbila), F6 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato).

As 4 formulações estudadas apresentaram valores de pH levemente ácidos, sendo esta faixa de pH obtida, ideal para as finalidades propostas, inclusive por que em pH próximo de 5,5 o Tetraisopalmitato de ascorbila apresenta maior estabilidade (MAIA CAMPOS, GONÇALVES, GASPAR, 2008).

As formulações desenvolvidas mostraram-se estáveis frente aos testes preliminares de estabilidade, pois não foram observadas alterações do tipo: cor, odor ou separação de fases e homogeneidade após estocagem no ambiente e a  $37 \pm 1$  e  $45 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante o período de 90 dias, o que é um indicativo de que estas formulações provavelmente não apresentarão problemas futuros de estabilidade (KLEIN, 1999).

Nesta etapa do estudo do comportamento reológico, as formulações F4, F5, F6 e F7, foram comparadas entre si, por meio da avaliação dos reogramas (Figuras 33 a 51) e dos valores de viscosidade aparente mínima (Tabela 9 e Figuras 52 a 54), de índice de consistência (Tabela 10 e Figuras 55 a 57) e de índice de fluxo, (Tabela 11 e Figuras 58 a 60), obtidos ao longo do período de 90 dias, com o objetivo de avaliar se a adição dos derivados de vitamina C e E, causariam algum tipo de instabilidade, provocando alterações nas características reológicas da formulação F4.

Os reogramas das formulações objeto de estudo não apresentaram alterações, tais como picos de instabilidade, durante os 90 dias de análise (Figuras 33 a 51).

Os valores de viscosidade aparente mínima (calculados a partir do ponto máximo de cisalhamento), das formulações objeto de estudo não apresentaram muitas oscilações durante o período de estudo. As formulações estudadas (F4, F5, F6 e F7) apresentaram valores semelhantes de viscosidade aparente quando comparadas entre si, durante os 90 dias de avaliação, nas diferentes temperaturas objeto de estudo (Tabela 9 e Figuras 52 a 54).

Em relação ao índice de consistência, as formulações objeto de estudo apresentaram um comportamento semelhante na avaliação desse parâmetro, não apresentando muitas oscilações durante os tempos 7, 14, 21 e 28 dias. Após 60 dias de estudo, as formulações apresentaram um aumento nos valores de índice de consistência, principalmente quando armazenadas a  $37$  e  $45^\circ\text{C}$ . (Tabela 10 e Figuras 55 a 57).

Todas as formulações estudadas apresentaram comportamento pseudoplástico, ou seja, índice de fluxo menor que 1 (MARTIN; BUSTAMANTE; CHUN, 1993), e as formulações estudadas não apresentaram grandes oscilações nos valores de índice de fluxo durante 60 dias de estudo. Após 90 dias de armazenamento a  $37$  e  $45^\circ\text{C}$  as formulações objeto de estudo apresentaram uma redução nos valores de índice de fluxo (Tabela 11 e Figura 58 a 60).

Assim, ao avaliar o conjunto de variáveis que fazem parte do estudo do comportamento reológico (perfil dos reogramas, valores de viscosidade aparente e índice de fluxo), todas as formulações estudadas foram consideradas estáveis, uma vez que não apresentaram grandes oscilações nos parâmetros analisados, e ao serem comparadas entre si, as formulações apresentaram comportamento reológico semelhante. Esse resultado indica que

a adição do tetraisopalmitato de ascorbila e da vitamina E na formulação F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) não provocou alteração no comportamento reológico das formulações estudadas.

Alguns estudos como os realizados por Austria, Semenzato e Bettero (1997), mostraram que a estabilidade do palmitato de ascorbila, está diretamente relacionada com as propriedades e a estrutura da formulação, e a formulação de gel-creme mostrou ser um veículo mais apropriado, para a adição do referido ativo, do que as emulsões óleo em água.

Uma vez que os derivados de vitaminas C e E objeto de estudo, apresentaram boa estabilidade quando veiculados em formulações cosméticas, e, ainda podem apresentar diferentes benefícios a pele, foi realizado mais um estudo de avaliação de eficácia clínica das formulações objeto de estudo, acrescidas dessas substâncias ativas.

Dentre as formulações objeto de estudo, a formulação F7 foi à formulação escolhida para o estudo comparativo de avaliação clínica com a formulação F4, por possuir a associação do Tetraisopalmitato de ascorbila e da Vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato. Alguns estudos, como o realizado por Burke (2007), mostraram que estas agem de forma sinérgica, promovendo uma melhor ação antioxidante na pele.

A região interna dos antebraços, das voluntárias foi a região corporal escolhida para a realização do referido estudo, pois a mesma tem sido amplamente empregada para a avaliação da eficácia de produtos cosméticos (VERTUANI et al., 2003; FUJIMURA et al., 2002; LEONARDI; GASPAR; MAIA CAMPOS, 2002; LEE, CHOI, 1999). Por ser protegida da radiação UV, a região anterior dos antebraços reflete os efeitos do envelhecimento cronológico (intrínseco) da pele (ROBERT; ROBERT; ROBERT, 2003) e vem sendo muito utilizada nos estudos de eficácia por apresentar uma série de vantagens como facilidade de aplicação e avaliação, comprometimento dos voluntários ao estudo e por haver, nessa região, menor interferência das condições ambientais e do estilo de vida (SUMINO et al., 2004).

Estudos como os realizados por Bazin e Fanchon (2006), demonstraram que os resultados obtidos em ensaios realizados na região interna dos antebraços são relevantes para a avaliação da eficácia de um produto destinado para uso facial.

Para a avaliação da eficácia clínica das formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila e Vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato), além da avaliação do conteúdo aquoso do extrato córneo, da perda de água transepidérmica e do micro-relevo cutâneo, foi também incluída a avaliação das propriedades viscoelásticas da pele (DOBREV, 2000).

Esta etapa do estudo clínico foi realizada no período de 15 dias, com a finalidade de avaliar se a presença dos derivados de vitaminas C e E na formulação F4, que continha D-Pantenol e o extrato de *Myrtus communis*, poderia influenciar e/ou potencializar os efeitos da referida formulação.

Na avaliação do conteúdo aquoso do extrato córneo as formulações avaliadas, F4 e F7, provocaram um aumento significativo neste parâmetro, após 15 dias de aplicação em relação aos valores basais e a região controle (região dos antebraços que não recebeu aplicação das formulações), melhorando a umectação cutânea na região dos antebraços (Figura 80). Assim, a presença dos derivados vitamínicos objeto de estudo na formulação F4, não interferiu no efeito hidratante de mesma, conforme demonstrado também na primeira etapa do estudo.

Em relação à avaliação da perda de água transepidérmica (TEWL), somente a formulação F4 provocou uma redução significativa nos valores de TEWL, quando comparado com os valores basais e a região controle, após 15 dias de aplicação nas regiões dos antebraços. Considerando que a vitamina C e os seus derivados, podem atuar na pele estimulando a renovação celular (Burke, 2007), onde pode ocorrer aumento da TEWL (RIEGER, 2000). Já a associação do extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol a estes derivados vitamínicos, não alterou a TEWL, ou seja, protegeram a função barreira da pele, mesmo durante um possível estímulo ao processo de renovação celular (MAIA CAMPOS; GONÇALVES; GASPAR, 2008).

Assim, a associação do extrato ao complexo vitamínico objeto de estudo pode proporcionar sinergismo de efeitos em termos de hidratação e proteção da pele em formulações com finalidade antienvhecimento e para os cuidados da pele em geral.

Em relação às propriedades viscoelásticas da pele, as formulações estudadas não alteraram os parâmetros avaliados, durante o período de estudo. Embora alguns autores correlacionem à viscoelasticidade cutânea com o grau de umectação da pele (DOBREV, 2000), outros afirmam que estes dois fatores não possuem uma relação linear, ou seja, a elasticidade não depende apenas da hidratação (WIECHERS; BARLOW, 1999).

Em relação à avaliação do micro-relevo, o qual permite uma avaliação quali e quantitativa da superfície da pele nas condições fisiológicas (KOH et al. 2002; DE PAEPE et al., 2000), nenhuma das formulações objeto de estudo ocasionaram alterações significativas nos parâmetro avaliadas durante o período de estudo. Porém, de acordo com os resultados relacionados ao parâmetro  $Se_{sm}$  (maciez e textura da pele), após 15 dias de uso das formulações, ocorreu um aumento dos valores desse parâmetro (dados não estatisticamente significativos), o que indicaria uma melhora na textura da pele (KOH et al. 2002).



O mesmo ocorreu com os parâmetros  $Se_w$  (número de rugas) e  $R_t$  (rugosidade), que apesar de não apresentarem resultados estatisticamente significativos após 15 dias de aplicação das formulações, mostraram uma diminuição nos valores desses parâmetros, ou seja, ocorreu uma tendência das formulações atuarem na diminuição do número de rugas e melhora do micro-relevo cutâneo (LI et al., 2006, KOH et al. 2002).

Em síntese, de acordo com os resultados obtidos, as formulações desenvolvidas neste estudo apresentaram efeito hidratante pronunciado e, as que continham o extrato *Myrtus communis* e pantenol, protegeram a função barreira da pele. Além disso, o extrato de *Myrtus communis* demonstrou atividade antioxidante pronunciada, efeito considerado muito importante para o emprego deste extrato em cosméticos com finalidade antienvhecimento.

Finalizando, este estudo mostrou a importância do desenvolvimento de formulações cosméticas estáveis, de sensorial adequado e com eficácia comprovada, contendo o extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e o complexo vitamínico objeto de estudo, para a hidratação, proteção e melhora das condições gerais da pele.

## ***8. CONCLUSÃO***

---

Nas condições experimentais deste trabalho, foi possível concluir que:

- Todas as formulações desenvolvidas, F1 (veículo), F2 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*), F3 (veículo acrescido de D-pantenol), F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol), F5 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Tetraisopalmitato de ascorbila - VCIP<sup>®</sup>), F6 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e Vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol, Tetraisopalmitato de ascorbila - VCIP<sup>®</sup> e Vitamina E - D-Alfa Tocoferol Acetato) foram consideradas estáveis na avaliação do comportamento reológico uma vez que não apresentaram oscilações consideráveis na viscosidade aparente, índices de consistência e de fluxo e tixotropia.

- Na avaliação da compatibilidade cutânea das formulações F1, F2, F3, F4 e F7 observou-se que estas não mostraram nenhum sinal de irritação na pele, ou seja, apresentaram compatibilidade cutânea considerada muito boa.

- Na avaliação sensorial, a formulação F4 obteve as maiores notas sendo, portanto, considerada a que teve maior aceitação pelo consumidor e melhor sensorial.

No estudo de avaliação da eficácia após uma única aplicação (efeitos imediatos), das formulações F1, F2, F3 e F4 verificou-se um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo após 3 horas da aplicação, nas regiões dos antebraços e da face, quando comparadas com os valores basais. Porém em relação à função barreira somente as formulações que continham as substâncias objeto de estudo (F2, F3 e F4) provocaram melhora na função barreira, na região dos antebraços e, na região da face, apenas as formulações F3 (veículo acrescido de D-pantenol) e F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) provocaram melhora na função barreira.

- Na avaliação da eficácia em longo prazo, as referidas formulações (F1, F2, F3 e F4), também proporcionaram um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo após 3 horas de estudo, nas regiões dos antebraços e da face, quando comparadas com os valores basais. Porém, em relação à função barreira da pele observou-se que, tanto na região dos antebraços quanto da face, as formulações F2, F3 e F4 provocaram melhora neste parâmetro após 30 dias de aplicação.

- Quando se analisou o micro-relevo cutâneo, as propriedades mecânicas da pele e o índice de eritema, observou-se que tanto na avaliação dos efeitos imediatos como em longo prazo, nenhuma das formulações provocaram alterações significativas nesses parâmetros.

Quando as formulações F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) e F7 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis*, D-pantenol e os derivados de vitamina C e E) foram avaliadas comparativamente, foi possível observar um aumento significativo nos valores do conteúdo aquoso do estrato córneo, em relação aos valores basais e a região controle, após 15 dias de aplicação. Porém, apenas a formulação F4 (veículo acrescido de extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e D-pantenol) provocou redução nos valores de TEWL.

- A aplicação das formulações estudadas não provocou alterações nas propriedades mecânicas da pele e no micro-relevo cutâneo, após única aplicação e na avaliação da eficácia em longo prazo.

- As formulações estudadas apresentaram estabilidade adequada e eficácia comprovada por meio de ensaios clínicos, pois aumentaram a hidratação da pele, sendo que as formulações acrescidas de *Myrtus communis* e D-pantenol também reduziram significativamente a TEWL, atuando, portanto na melhora da função barreira da pele.

- As formulações desenvolvidas neste estudo apresentaram efeito hidratante pronunciado e, as que continham o extrato *Myrtus communis* e D-pantenol, protegeram a função barreira da pele. Além disso, o extrato de *Myrtus communis* demonstrou atividade antioxidante pronunciada, efeito considerado muito importante para o emprego deste extrato em cosméticos com finalidades antienvhecimento

- Os resultados obtidos mostraram a importância do desenvolvimento de formulações cosméticas estáveis, de sensorial adequado e com eficácia comprovada, contendo o extrato hidrolisado de *Myrtus communis* e o complexo vitamínico objeto de estudo, para a hidratação, proteção e melhora das condições gerais da pele.

## ***9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

---

ANCONI, G. L.; DAL'BELO, S. E.; SILVA, M. M.; CAMARGO JR, F.B.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Evaluation of Sensorial Effects of Gels Containing L-Fucose and L-Rhamnose and its Stability When Associated or Not With Dimethylaminoethanol (DMAE), Wheat Protein or Kinetin in Liposomes. **1º SINPOSPq**, Ribeirão Preto, 2004. CD-ROM. Ribeirão Preto, 2004.

APPENDINO G, MAXIA L, BETTONI P, LOCATELLI M, VALDIVIA C, BALLERO M, STAVRI M, GIBBONS S, STERNER O. Antibacterial galloylated alkylphloroglucinol glucosides from myrtle (*Myrtus communis*). **J. Nat. Prod.**, v.69, n.2, p.251-4, 2006.

ATOUI, A.K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herval infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chem.**, v.89, p.27-36, 2005.

ATRUX-TALLAU, N.; HUYNH, N.T.T.; GARDETTE, L.; PAILLER-MATTÉI, C.; ZAHOUANI, H.; VIVIAN, E.; HIRSCH, H.; MAREK, H.; FALSON, F.; PIROT, F. Effects of physical and chemical treatments upon biophysical properties and micro-relief of human skin. **Arch. Dermat. Res.**, v.300, p. 243-251, 2008.

AUSTRIA, R.; SEMENZATO, A.; BETTERO, A. Stability of vitamin C derivates in solution and topical formulations. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v.15, p.795-801, 1997.

BADRA, M. V. L.; MAIA CAMPOS, P. M. B.G.; RICCI, G. Estudo da Influência de Diferentes Veículos na Liberação e Absorção do D-Pantenol: Avaliação in vivo e in vitro. **Cosm. Toil.**, v.14, n.90, p.42-44, 1994.

BARBA, C.; MÉNDEZ, S.; RODDICK-LANZILOTTA, A.; KELLY, R.; PARRA, J.L.; CODERCH, L. Cosmetic effectiveness of topically applied hydrolysed keratin peptides and lipids derived from wool. **Skin Res. Technol.**, v.14, p.243-248, 2008.

BARNES, H. A. Rheology of emulsions-a review. **Colloids Surf. A**, Amsterdam, v.91, p.89-95, 1994.

BAZIN, R.; FANCHON C. Equivalence of face and volar forearm for the testing of moisturizing and firming effect of cosmetics in hydration and biomechanical studies. **Int. J. Cosmet. Sci.**, v.28, p. 453-460, 2006.

BEITNER, H. Randomized, placebo-controlled, double blind study on the clinical efficacy of a cream containing 5%  $\alpha$ -lipoic acid related to photoageing of facial skin. **Br. J. Dermatol.**, Oxford, v.149, n.4, p.841-849, 2003.

BENAIGES, A.; ARMENGOL. R.; BETES, C.; GIRMONÉS, E. Study of the refirming effect of a plant complex. **Int. J. Cosmet. Sci.**, v.20, p.223-233, 1998.

BERARDESCA, E. Racial differences in skin function. **Acta. Derm. Venereol. Suppl. (Stockh.)**, v.185, p.44-46, 1994.

BERARDESCA, E.; FARINELLI, R.; RABBIOSI, G.; MAIBACH, H.I. Skin Bioengineering in the Noninvasive Assessment of Cutaneous Aging. **Dermatologica**, v.182, p.1-6, 1991.

BIRO, K.; THAC, D.; OCHSENDORF, I.F.; KAUFMANN, R.; BOEHNCKE, W. H. Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study. **Contact. Derm.**, v. 49, p.80–84, 2003.

BISSET, D.L.; CHATTERJEE, R.; HANNON, D.P. Photoprotective effect of superoxide-scavenging antioxidants against ultraviolet radiation-induced chronic skin damage in the hairless mouse. **Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.**, v.7, p.56-62, 1990.

BRASIL. Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

BRAVO L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutr.**, v.56, p.317-333, 1998.

BRUMMER, R.; GODERSKY, S. Rheological studies to objectify sensations occurring when cosmetic emulsions are applied to the skin. **Colloids Surf. A-Physicochem. Eng. Aspects**, Amsterdam, v.152, p.89-94, 1999.

BURACZEWSKA I.; BROSTROM U.B.; LODÉN M. Artificial reduction in transepidermal water loss improves skin function. **British J. Dermatol.**, v.157, n.1, p.82-86, 2007.

BURKE, K.E. Interaction of vitamins C and E as better cosmeceuticals. **Dermatologic Therapy**, v.20, p.314-321, 2007.

CALLEGOS, C.; FRANCO, J. M. Rheology of food, cosmetics and pharmaceuticals. **Curr. Opin. Colloid Interface Sci.**, v.4, p.288-293, 1999.

CAMARGO JUNIOR, F.B. **Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo pantenol e avaliação dos seus efeitos hidratantes na pele por bioengenharia cutânea**. 2006. 153p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

CAMARGO JÚNIOR, F. B.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Stability and Efficacy of Cosmetic Formulations Containing Panthenol in Different Concentrations.. In: IFSCC, 2007, Amsterdã. **IFSCC**, 2007.

CHENG, Z.; YAN, G.; LI, Y.; CHANG, W. Determination of antioxidant activity of phenolic antioxidants in a Fenton-type reaction system by chemiluminescence assay. **Anal Bioanal Chem.**, v.375, p.376-380, 2003.

CHIU, A.; KIMBALL, A.B. Topical vitamins, minerals and botanical ingredients as modulators of environmental and chronological skin damage. **Br. J. Dermatol.**, v.149, p.681-691, 2003.

CHUARIENTHOMG, P.; LOURITH, N.; LEELAPORNPISID, P. Clinical efficacy comparison of anti-wrinkle cosmetics containing herbal flavonoids. **Int. J. Cosmet. Sci.**, v.32, p.99-106, 2010.

COLVEN, R.M.; PINNELL, S.R. Topical vitamin C in aging. **Clin. Dermatol.**, v.14, p.227-234, 1996.

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

COUTEAU, C.; COIFFARD, I. J.; SEBILLE-RIVAIN, V. Influence of excipients on moisturizing effect of urea. **Drug. Dev. Ind. Pharm.**, v.32, n.2, p. 239-242, 2006.

CURDY, C.; NAIK, A.; KALIA, Y.N.; ALBERTI, I.; GUY, R.H. Non-invasive assessment of the effect of formulation excipients on stratum corneum barrier function in vivo. **Int. J. Pharm.**, v.271, n.1-2, p.251-256, 2004.

DAL' BELO, S. E.; GASPAR, L. R; MAIA CAMPOS, P. M. B.G. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. **Skin Res. Technol.**, v.12, p.241-246, 2006.

DAHMS, G. H. Rheology-ita effect on physical SPFs. **Soap. Perfum. Cosm.**, p.23-25, 1996.

DARLENSKII, R.; SASSNING, S.; TSANKOV, N.; FLUHR, J.W. Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v.72, n.2, p.295- 303, 2009.

DARR, D.; DUNSTON, S.; FAUST, H.; PINNELL, S. Effectiveness of antioxidants (vitamin C and E) with and without sunscreens as topical photoprotectants. **Acta. Derm. Venereol. (Stockh.)**, v.76, p.264-268, 1996.

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



D'LEÓN, L. F. P. Estudo de Estabilidade de Produtos Cosméticos. **Cosm. Toil.** Jul./Ago.,(Edição em Português), p.54-60, 2001.

DOBREV, H. A study of human skin mechanical properties by means of Cutometer. **Folia Med.** (Plovdiv), Sofia, v.44, n.3, p.5-10, 2002.

DOBREV, H. Use of cutometer to assess epidermal hydration. **Skin Res. Technol.**, Copenhagen, v.6, p.239-244, 2000.

EBNER, F.; HELLER, A.; RIPPKE, F.; TAUSCH, I. Topical Use of Dexpanthenol in Skin Disorders. **Am. J. Clin. Dermatol.**, v.3, n.6, p.427-433, 2002.

EDWARDS, C.; MARKS, R. Evaluation of Biomechanical Properties of Human **Skin. Clin. Dermatol.** v.13, p.375-380, 1995.

EGAWA, M.; OGURI, M.; HIRAO, T.; TAKAHSHI, M.; MIYAKAWA, M. The evaluation of skin friction using a frictional using a frictional feel analyzer. **Skin Res. Technol.**, Copenhagen, v.8,n.1, p.41-51,2002a.

EGAWA, M.; OGURI, M.; KUWAHARA, T.; TAKAHSHI, M. Effect of exposure of human skin to a dry environment. **Skin Res. Technol.**, Copenhagen, v.8, p.212-218, 2002b.

ENJELKE, M.; JENSEN, J.M.; EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, S.; PROKSCH, E. Effects of xerosis and ageing on epidermal proliferation and differentiation. **Br. J. Dermatol.**, v.137, p.219-225, 1997.

FISCHER, A.A. **Contact Dermatitis.** Lea & Febiger, Philadelphia, 4<sup>o</sup> ed.,1995. 1020 p.

FOSTER, A. H.; HERRINGTON, T. M. Rheology of two commercially available cosmetic oil in water emulsions. **Int. J. Cosm. Sci.**, v.20, p.317-326, 1998.

FU, J.J.J.; HILERBRAND, G.G.;RALEIGH, P.; LI, J.; MARMOR, M.J.; BERTUCCI, V.; GRIMES, P.E.; MANDY, S.H.; PEREZ, M.I.; WEINKLE, S.H.; KACZVINSKY, J.R. A randomized, controlled comparative study of the wrinkle reduction benefits of a cosmetic nicinamide/peptide/retinyl propionate product regimen vs. a prescription 0.02% tretinoin product regimen. **Br. J. Dermatol.**, v.162, p.647-654, 2010.

FULLERTON, A.; FISCHER, T.; LAHTI, A.; WILHELM, K.P.; TAKIWAKI, H.; SERUP, J. Guidelines for measurement of skin colour and erythema: a report from standardization group of the European Society of Contact Dermatitis. **Contact Dermatitis**, v.35, p.1-10, 1996.

FUJIMURA, T.; TSUKAHARA, K.; MORIWAKI, S.; KITAHARA, T.; SANO, T.; TAKEMA, Y. Treatment of human skin with an extract of *Fucus vesiculosus* changes its thickness and mechanical properties. **J. Cosm. Sci.**, v.53, n.1, p.1-9, 2002.

GASPAR, L.R; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Evaluation of the protective effect of alpha-tocopheryl acetate in a sunscreen, preventing erythema formation, transepidermal water loss and sunburn cell formation. **IFSCC Magazine**, v.6, n.3, p.213 - 217, 2003a.

GASPAR, L. R.; MAIA CMPOS, P. M. B. G. Rheological behavior and the SPF of sunscreens. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.250, n.1, p.35-44, 2003b.

GASPAR, L.R; KANASHIRO, A.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Avaliação da eficácia in vitro de vitaminas e derivados com propriedades anti radicais livres In: **17º Congresso Brasileiro de Cosmetologia**, 2003, São Paulo. Anais , 2003.

GEHRING, W.; GLOOR, M. Effect of Topically Applied Dexpanthenol on Epidermal Barrier Function and Stratum Corneum Hydration. **Arzneimittelforschung**, v.50, p.659-663. 2000.

GEHRING, W.; FLUHR, J.; GLOOR, M. Influence of vitamin E acetate on stratum corneum hydration. **Arzneimittelforschung**, v.48, p.772-775, 1998.

GIOIA F, CELLENO L. The dynamics of transepidermal water loss (TEWL) from hydrated skin. **Skin Res. Technol.**, Copenhagen, v. 8, p.178-186, 2002.

GOLDSMITH, L. A My organ is bigger than your organ. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.126, p.301-302, 1990.

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

HALLER, P. H. Aplicações de lipídeos e fosfolipídeos em cosméticos. **Cosm. Toil.**, Carol stream, V.1, n.4, p.33-40, 1989.

HASHIMOTO-KUMASAKA, K.; TAKAHASHI, K.; TAGAMI, H. Electrical measurement of the water content of the stratum corneum *in vivo* and *in vitro* under various conditions: comparison between skin surface Hygrometer and Corneometer in evaluation of the skin surface hydration state. **Acta. Derm. Venereol. Suppl. (Stockh.)**, v.73, p.335-339, 1993.

HENRY, F.; HENRY, F.; VAN LOOK, R.; GOFFIN, V.; FISSETTE, J.; PIERARD. G. E. Mechanical properties of skin and liposuction. **Dermatol. Surg.**, Malden, v.22, n.6, p.566-568, 1996.

HOLBROOK, K.A.; WOLFF, K. The structure and development of skin. In: FITZPATRICK, T.B.; EISEN, A.Z.; WOLF, K. **Dermatology in general medicine**, 4th ed., New York: McGraw-Hill., 1993. cap.16, p.241-253.

HUMBERT, P.G.; HAFTEK, M.; CREIDI, P.; LAPIERE, C.; NUSGENS, B.; RICHARD, A.; SCHMITT, D.; ROUGIER, A.; ZAHOUANI, H. Topical ascorbic acid on photoaged skin. Clinical, topographical and ultrastructural evaluation: double-blind study vs. placebo. **Exp. Dermatol.**, v.12, n.3, p.237-244, 2003.

IDSON, B. Vitamins and Skin. **Cosm. Toil.**, Carol Stream, v. 108, p.79-94, 1993.

IOBST, S.; SANTHANAM, U.; WEINKAUF, R. Biotechnology in Skin Care (I): Overview. In: LAD, R. **Biotechnology in Personal Care.**, New York: Taylor & Francis; 2006. Cap.5, p.117-122.

KAMEYAMA, K., SAKAI, C., KONDOH, S. Inhibitory effect of magnesium l -ascorbyl-2 phosphate (VC-PMG) on melanogenesis in vitro and in vivo. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v.34, p.29-33, 1996.

KELLER, K.L.; FENSKE, N.A Uses of vitamins A, C and E and related compounds in dermatology: A review. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 39, p. 611-25, 1998.

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

KOCH, P.J.; ROOP, D.R.; ZHOU, Z. Cornified Envelope and Corneocyte-Lipid Envelope. In: ELIAS, P.M.; FEINGOLD, K.R. **Skin Barrier**. New York: Taylor & Francis, 2006, cap.8, p.87-106.

KOH, J.S.; KANG, H.; CHOI, S.W.; KIM, H.O. Cigarette smoking associated with premature facial wrinkling: image analysis of facial skin replicas. **Inter. J. Dermatol.**, v.41, n.1, p.21-27, 2002.

LABA, D. **Rheological Properties of Cosmetics and toiletries**. New York. Marcel Dekker, 1993. cap.2, p.09-33.

LAHTI, A.; KOPOLA, H.; HARILA, R.; MYLLYLÄ, R.; HANNUKSELA. Assessment of skin erythema by eye, laser Doppler flowmeter, spectroradiometer, two-channel erythema meter and Minolta chroma meter. **Arch. Dermatol. Res.**, v.285, p.278-282, 1993.

LEE, H.K.; SEO, Y.K.; BAEK, J.H.; KOHN, J.S. Comparison between ultrasonography (Dermascan C version 3) and transparency profilometry (Skin Visiometer SV600). **Skin Res. Technol.**; v.14, p.9-12, 2008.

LEE, K.K; CHOI, J.D. The effects of Areca cathechu L extract on anti-aging. **Inter. J. Cosm. Sci.**, n.21, p.285-295, 1999.

LEONARDI, G. R.; POLACOW, M. L. O.; PIRES-DE-CAMPOS, M. S. M.; ZAGUE, V. Influência do Phytantriol na penetração do d-Pantenol. **Cosm. Toil.** v.18, n.3, p 66-68, 2006.

LEONARDI, G. R. **Cosmetologia Aplicada**. Medfarma, 1<sup>o</sup>ed., 2004. p.92-93.

LEONARDI, G. R.; GASPAR L. R.; MAIA CAMPOS P. M. B. G. Application of a non-invasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. **J. Cosm. Sci.**, Nova York, v. 53, n. 5, p. 263–268, 2002.

LEONARDI, G. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Estabilidade de Formulações Cosméticas. **Inter. J. Pharma. Compounding.**, Editora Brasileira, v.3, n.4, jul/ago., p.154-156, 2001.

LI LI; MAC-MARRY, S.; MARSAUT, D.; SANTHILLIER, J.M.; NOUVEAU, S.; GHARBI, T.; LACHARRIERE, O.; HUMBERT, P. Age-related changes in skin topography and microcirculation. **Arch. Dermatol. Res.**, v.294, p.412-416, 2006.

LODEN, M. Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorders. **Am. J. Clin. Dermatol.**, v.4, n.11, p.771-88, 2003.

LOMUTO, M.; PELLICANO, R.; GIULIANI, M. Equipment available for bioengineering of the skin. **Clin. Dermatol.**, New York, v.13, n.4, p.409-415, 1995.

LUCISANO-VALIM, Y.M., KABEYA, L.M.KANASHIRO, A.; RUSSO-CARBOLANTE, E.M.; POLIZELLO, A.C.; AZZOLINI, A.E.; SILVA, S.C.; LOPES, J.L.; DE OLIVEIRA, C.A.; MANTOVANI, B. A simple method to study the activity of natural compounds on the chemiluminescence of neutrophils upon stimulation by immune complexes, **Journal of Pharmacology and Toxicological Methods**, v. 47, n. 1, p. 53-58, 2002.

LUPO, M. P. Antioxidants and Vitamins in Cosmetics. **Clin. Dermatol.**, 19.,p.467-473, 2001.

MAC-MARY, S.; CREIDI, P.; MARSUT, D.; COURDEROT-MASUYER, C.; COCHET, V.; GHARBI, T.; GUIDICELLI-ARRANZ, D.; TONDU, F.; HUMBERT, P. Assessment of effects of an additional dietary natural mineral water uptake on skin hydration in healthy subjects by dynamic barrier function measurements and clinic scoring. **Skin Res. Tech.**, v.12, n.3, p.199-205, 2006.

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

MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; GIANETI, M.D.; KANASHIRO, A.; LUCISANO-VALIN, Y.M.; GASPAR, L.R.; In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effects of an association of bioflavonoids with liposoluble vitamins. **Photochemistry and Photobiology**, v. 82 n.3, p. 683-688, 2006.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; MOSCARDI, J. S.; GASPAR, L. R. Avaliação dos efeitos de formulações cosméticas contendo uma associação de substâncias ativas em lipossomas na prevenção dos danos da radiação ultravioleta. In: **18º CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA**, 2004, São Paulo. *Cosmetics & Toiletries* (Edição em Português), 2004. v. 16. p. 90.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; SILVA, G.M. Desenvolvimento de Produtos Cosméticos. **Cosm. Toil.** (Edição em Português), v. 14, pp. 66-69, 2002.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; BADRA, M.V.L. Estudo da estabilidade física de bases dermatológicas contendo ésteres fosfóricos. **Aerosol. Cosmet.**, v.14 n.79, p.08-11, 1992.

MARTIN, A.; BUSTAMANTE, P.; CHUN, A. H. C. Rheology. In: MARTIN, A.; BUSTAMANTE, P.; CHUN, A. H. C. **Physical Pharmacy**. 4th ed, Philadelphia: Lea & Febiger., 1993, cap.17, p.453-473.

MARZULLI, F.N; MAIBACH, H.I. **Dermatotoxicology**, 5th ed. Washington DC: Taylor and Francis., 1996. v.11,n.12, p.285-86.

MARZULLI, F.N., MAIBACH, H.I. Contact allergy: predictive testing in man. **Contact Dermatitis**. v.2, p.1-17. 1976.

MAYER P. The effects of vitamin E on the skin. **Cosm. Toil**, v.108, p.99-109, 1993.

MCVEAN, M.; LIEBLER, D.C. Inhibition of UVB induced DNA photodamage in mouse epidermis by topically applied  $\alpha$ -tocopherol. **Carcinogenesis**, v.18, n.8, p.1617-1622, 1997.

MONTORO P, TUBEROSO CI, PIACENTE S, PERRONE A, DE FEO V, CABRAS P, PIZZA C. Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v.41, n.5, p.1614-9, 2006.

NANGIA, A.; PATIL, S.; BERNER, B.; BOMAN, A., MAIBACH, H. In vitro measurement of transepidermal water loss: a rapid alternative to tritiated water permeation for assessing skin barrier functions. **Inter. J. Pharm.**, Amsterdam, v.170, n.1, p.31-40, 1998.

O'GOSHI, K.; SERUP, J. Inter-instrumental variation of skin capacitance measured with the Corneometer. **Skin Res. Technol.**, Copenhagen, v.11, n.2, p.107-109, 2005.

PAOLA, M.V.R.V.; RIBEIRO, M.E.; YAMAMOTO, J.K. Multifuncionalidade das Vitaminas. O Poder das Vitaminas nos Produtos Cosméticos. **Cosm. Toil.**, v.10, n.4, p.44-54, 1998.

PARK WY, PARK JS, CHO KA, KIM DI, YO YG, SEO JS, PARK SC. Up regulation os caveolin attenuates epidermal growth factor signaling in senescent cells. **J. Biol. Chem.**, v.275, n.27, p.20847-52, 2000.

PATHAK, M. A.; FITZPATRICK, T. B. Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis and skin cancer with sun-protective agents. In: FITZPATRICK, T. B.; EILSEN, A. Z.; WOLFF, K.; FREEDBERG, I. M.; AUSTEN K.F. 4th ed. **Dermatology in General Medicine**, 4th ed., New York: McGraw-Hill, 1993. cap.137, p.1689-1716.

PAYE, M.; MAC-MARY, S.; ELKHYAT, A.; TARRIT, C.; MERMET, P.; HUMBERT, P.H. Use of the Reviscometer<sup>®</sup> for measuring cosmetics-induced skin surface effects. **Skin Res. Technol.**, v.13, p.343-349, 2007.

PIÉRARD, G.E. Instrumental non-invasive assessments of cosmetic efficacy. **J. Cosm. Dermatol.**, V.1, p.57-58, 2002.

RANGARAJAN, M.; ZATZ, J.L. Effect of formulation on the topical delivery of alpha tocopherol. **J. Cosm. Sci.**, v.54, n.5, p.161-174, 2003.

RANGARAJAN, M.; ZATZ, J.L. Effect of formulation on the delivery and metabolism of alpha-tocopheryl acetate. **J. Cosm. Sci.**, v.52, p.225-236, 2001.

RIEGER, M.M. Skin. In: AMATO J.B.; GLASER D.A.; KOLLIAS N. Harry's Cosmeticology, ed. 8<sup>th</sup>. New York: Chemical Publishing Co., 2000, cap.1, p. 3-38.

ROBERT, C.; ROBERT, A. M.; ROBERT, L. Effect of a fucose-rich polysaccharide preparation on the age-dependent evolution of the skin surface micro-relief. **Pathol. Biol.**, v.51, n.10, p.586-590, 2003.

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

ROGIERS, V.; EEMCO Group EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. **Skin Pharmacol. Appl. Skin. Physiol.**, v.14, n.2, p.117-128, 2001.

ROGIERS, V. The potential use of non-invasive methods in the safety assessment of cosmetic products – The report and recommendations of ECVAM/EEMCO Workshop 36 **Altern. Lab. Anim.**, n.27, p.515-537, 1996.

RUVOLO, E.C.; STAMATAS, G.N.; KOLLIAS, N. Skin viscoelasticity displays site and age- dependent angular anisotropy. **Skin Pharmacol. Physiol.**, v.20, p.313-321, 2007.

RUVOLO, E.; KOLLIAS, N.; COLE, C. Method of measuring of skin anisotropy. **United States Patent 20060052719**, 03 Set, 2006.

SAGIV, AE; MARCUS Y. The connection between in vitro water uptake and in vivo skin moisturization. **Skin Res. Technol.**, n.9, p. 306 – 311, 2003

SANDO GN, ZHU H, WEIS JM, RICHMAN JT, WERTZ PW, MADISON KC. Caveolin Expression and Localization in Human Keratinocytes Suggest a Role in Lamellar Granule Biogenesis. **J. Invest. Dermatol.**, v.120, p.531–541, 2003.

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

SAYRE, R.M. et al. Changing the risk spectrum of injury and the performance on sunscreen products throughout the day. **Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.**, v.10, n.4, p.148-153, 1994.

SHAPIRO, S.S.; SALIOU, C. Role of Vitamins in Skin Care. **Nutrition**, v. 17, n. 10, p. 839-844, 2001.

SILVA, G.M.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Histopathological, morphometric and stereological studies of ascorbic acid and magnesium ascorbyl phosphate in a skin care formulation. **Int. J. Cosm. Sci.**, v.22, p.169-179, 2000.

SILVER, F. H.; SIPERKO, L. M.; SEEHRA, G. P. Mechanobiology of force transduction in dermal tissue. **Skin Res. Technol.**, Copenhagen, v.9, n.1, p.3-23, 2003.

SMALLS, L.K.; WICKETT, R.R.; VISSCHER, M.O. Effect of dermal thickness, tissue composition, and body site on skin biomechanical properties. **Skin Res. Technol.**, v.12, p.43-49, 2006.

SMITH, C. Stratum corneum barrier integrity controls skin homeostasis. **Inter. J. Cosm. Sci.**, Oxford, v.21, p.99-106, 1999.

SORIANO, M.M.J; CONTRERAS, M.J.F.; FLORES, E.S. Proposal and pharmacotechnical study of a modern dermo-pharmaceutical formulation for cold cream. **Bolletino Chimico Farmaceutico**, v.135, n.6, p.364-373, 1996.

SPENCER, T. S. Dry skin and skin moisturizers. **Clin. Dermatol.**, Philadelphia, n.6 p.24-28, 1988.

SPICLIN, P.; GASPERLIN, M.; KMETEC, V. Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsions. **Int. J. Pharm.**, v.222, n.2, p.271-279, 2001.

SUMINO, H.; ICHIKAWA, S.; ABE, M.; ENDO, Y.; ISHIKAWA, O.; KURABAYASHI, M. Effects of aging, menopause and hormone replacement therapy on forearm skin elasticity in women. **J. Am. Geriatr. Soc.**,v.52, p.945-949, 2004.

TACHINARDI, F.; SÁ DIAS, T. C.; PICIRILI, C. A. D.; GOMES, A. L.; ARRUDA, R. Avaliação sensorial de produtos cosméticos em pele no. In: **XVII COLAMIQC**, 2005, Cusco CD-ROM Cusco, 2005.

TAKEMA Y.; YORIMOTO Y.; KAWAI M.; IMOKAWA G. Age-related changes in the elastic properties and thickness of human facial skin. **Br. J. Dermatol.**, v.131, n.5, p.641-648, 1994.

THIELE, J.J.; SCHROETER, C.; HSIEH, S.N. et al. The antioxidant network of the stratum corneum. **Curr. Probl. Dermatol.**, v.29, p.26-42, 2001.

TEVITHICK, J.R.; XIONG, H.; LEE, S.; SHUM, D.T.; SANFORD, S.E.; KARLIK, S.J.; NORLEY, C.; DILWORTH, G.R. Topical tocopherol acetate reduces post-UVB, sunburn-associated erythema, edema, and skin sensitivity in hairless mice. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.296, n.2, p.575-582, 1992.

UHODA, I.; FASKA, N.; ROBERT, C.; CAUWENBERGH, G.; PIERARD, G.E. Split face study on the cutaneous tensile effect of 2-dimethylaminoethanol (deanol) gel. **Skin Res. Technol.**, v.8, n.3, p.164-167, 2002.

VERMA, D.D.; VERMA, S.; BLUME, G; FAHR, G. Particle size of liosomes influences dermal delivery of substances into skin. **Int. J. Pharm.**, v. 258, p. 141-151, 2003.

VERTUANI, S.; ZIOSI, P.; SOLAROLI, N.; BUZZONI, V.; CARLI, M.; LUCCHI, E.; VALGIMIGLI, L.; BARATTO, G.; MANFREDINI, S. Determination of antioxidant efficacy of cosmetic formulations by non-invasive measurements. **Skin Res. Technol.**, v.9, n.3, p.245-253, 2003.



VEXLER, A.; POLYANSKI, I.; GORODETSKY, R. Evaluation of skin viscoelasticity and anisotropy by measurement of speed of shear propagation with viscoelasticity skin analyzer. **J. Invest. Dermatol.**, v. 13, n.5, p.32-739, 1999.

WIECHERS, J.W.; BARLOW, T. Skin moisturization and elasticity originate from at least two different mechanisms. **Int. J. Cosmet. Sci.**, Oxford, v.21, p.425-435, 1999.

YAAR, M.; ELLER, M.S.; GILCHREST, B.A. Fifty Years Skin Aging. **J. Invest. Dermatol.**, v.7, n.1, p.51-58, 2002.

YOSHIMURA, M.; AMAKURA, Y.; TOKUHARA, M. Polyphenolic compounds isolated from the leaves of *Myrtus communis*. **J. Nat. Med.**, v.62, p.366-368

ZANATTA, C.F.; SATO, A. M. C. F.; CAMARGO JUNIOR, F. B.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; ROCHA-FILHO, P. A. Rheological behavior, zeta potential, and accelerated stability tests of Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) emulsions containing lyotropic liquid crystals. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 36, n.1, p. 93-101, 2010.