

DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE DE ESTABILIDADE DE FORMULAÇÃO COSMECÊUTICA PARA AMENIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES NA PELE CAUSADAS NO PERÍODO DO CLIMATÉRIO

Anna Caroline Machado¹

Maurício da Silva Mattar²

RESUMO

O envelhecimento é algo natural e inevitável, porém com a diminuição dos hormônios sexuais femininos devido o climatério, esse período da vida torna-se ainda mais difícil. Com a degradação do colágeno a pele apresenta-se ressecada, com pouca elasticidade e com aparecimento de rugas, trazendo impacto na autoestima, uma vez que a boa aparência é de grande importância na vida da maioria das mulheres. Desta forma, levando em consideração esse desconforto, pensou-se no desenvolvimento de uma formulação cosmecêutica estável e capaz de reestruturar a pele, contendo ativos inovadores que proporcionam efeito imediato, dando a sensação de bem-estar nesse período. Foram desenvolvidas duas formulações, e estas foram submetidas a análise de pH, viscosidade, aspectos organolépticos, microbiologia e microscopia, ambas apresentaram bom comportamento e tendência à estabilidade, embora ajustes na viscosidade sejam necessários para uma viscosidade mais equilibrada não interferindo no produto final, além de estudos clínicos que comprovem a eficácia da formulação proposta.

Palavras-chave: Envelhecimento. Colágeno. Viscosidade.

ABSTRACT

Aging is something natural and inevitable, but with the decrease in female sex hormones due to the climacteric, this period of life becomes even more difficult. With the degradation of collagen, the skin appears dry, with little elasticity and with the appearance of wrinkles, impacting self-esteem, since good looks are of great importance in the life of most women. Thus, taking this discomfort into account, we thought of developing a stable cosmeceutical formulation capable of restructuring the skin, containing innovative actives that provide immediate effect, giving the feeling of well-being in that period. Two formulations were developed, and these were subjected to analysis of pH, viscosity, organoleptic aspects, microbiology and microscopy, both showed good behavior and tendency to stability, although adjustments in viscosity are necessary for a more balanced viscosity not interfering in the final product, besides clinical studies that prove the effectiveness of the proposed formulation.

Keywords: Aging. Collagen. Viscosity.

1. INTRODUÇÃO

Envelhecer é algo natural e inevitável, trata-se do resultado de dois processos biológicos, sendo ele o envelhecimento intrínseco que afeta a pele com a mesma

¹ Graduando do Curso de farmácia da UniSales Centro Universitário Salesiano. E-mail: annacarolinemachado@hotmail.com.

² Graduado em Farmácia. Mestre em Biotecnologia do Agronegócio. Atuação acadêmica. E-mail: mmattar@ucv.edu.br

intensidade que afeta os demais órgãos, e o envelhecimento extrínseco proveniente de fatores externos. Com maior ênfase para as mulheres, o envelhecimento intrínseco da pele é caracterizado pelas alterações hormonais consequentes da idade, com a diminuição dos hormônios sexuais correlacionados com a menopausa. A falta desses hormônios tem como resultado a degradação do colágeno, pele ressecada e atrofiada, carência de elasticidade e com presença de rugas (BERNEBURG et al; MAKRANTONAKI et al; apud PAPAKONSTANTINO et al, 2012, tradução nossa).

O climátero foi estabelecido pela Organização Mundial da Saúde como uma fase biológica da vida, e não uma doença, que compreende a mudança entre o período reprodutivo e o período em que não há fertilidade da mulher. A menopausa é um período que corresponde ao último ciclo menstrual que deve ser considerado após 12 meses de sua cessação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

As alterações que são previstas para o corpo podem impactar na autoestima da mulher e gerar um sofrimento psicológico devido a visão de cada sociedade sobre o envelhecimento e além de existir a exaltação da perfeição física tornando essa fase da vida mais difícil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Sendo a pele um dos órgãos mais acometidos por esse período acredita-se que um cosmeceutico facial teria a capacidade de auxiliar na amenização das alterações da pele quando as mulheres estão no período climatérico, sendo capaz de fortalecer as fibras de colágeno, preencher as linhas finas, colaborar com a firmeza da pele e aumentar a hidratação, o principal objetivo é desenvolver uma formulação cosmeceutica facial inovadora com boa estabilidade e que possa amenizar o aparecimento dessas alterações.

No mercado, os produtos voltados para essa necessidade são recentes, contudo, surgiu a ideia de desenvolver um cosmeceutico constituído por ativos que auxiliam na síntese das propriedades estruturantes da pele e que proporcione uma melhoria imediata, pelo fato de ser na face a maior percepção dessas alterações, com a presença de rugas, falta de elasticidade e pele seca, sendo extremamente visível ocasionando desconforto devido à preocupação com a autoimagem e com o padrão de beleza da sociedade.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PELE

A pele é um órgão essencial de conexão dos meios internos e externos, protegendo os outros órgãos, sendo essencial na imunidade inata e adquirida, mantendo a temperatura corpórea ideal, responsável por incontáveis funções orgânicas primordiais, além de agir como imenso órgão sensorial, farto em terminações nervosas e corpúsculos sensoriais. Sendo considerada uma estrutura de “bloqueio” (COSTA, 2012).

De acordo com Junqueira e Carneiro (2004) a anatomia da pele é composta por duas camadas, derme e epiderme. A hipoderme encontra-se abaixo da derme, não sendo considerada parte da pele, unicamente servindo de conexão entre os órgãos, sendo um tecido conjuntivo frouxo abrangendo células adiposas, formando o panículo adiposo.

2.1.1 EPIDERME

A epiderme é a camada superficial da pele, formada pelo epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, sendo avascular, a sua celularidade retrata-se pelos queratinócitos, em que a principal atividade é unir as proteínas estruturais resistentes, chamadas de citoqueratinas, que auxiliam na composição do citoesqueleto celular (COSTA, 2012).

Na epiderme é possível encontrar quatro tipos de células: os queratinócitos em maior quantidade, os melanócitos, as células de Langerhans e as células de Merkel. A estrutura e espessura da epiderme podem ser diferentes de acordo com o local, sendo mais espessa na palma das mãos e planta dos pés, podendo atingir uma espessura de 1,5mm. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004)

A camada basal, também chamada de germinativa, é repleta de células-tronco e apresenta atuação mitótica, possui a responsabilidade juntamente com a camada espinhosa da contínua renovação da epiderme, que estimativamente é renovada a cada 15 a 30 dias, dependendo de fatores temporais de cada pessoa, também é observado filamentos intermediários de queratina, tornando-se abundantes conforme a célula alcança a exterioridade (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A camada espinhosa é constituída por células cubóides ou achatadas, com núcleo central, citoplasma com pequenas extensões com tonofilamentos (feixes de filamentos de queratina), que se unem com as células próximas através dos desmossomos originando o aspecto espinhoso nas células, sendo assim preservando a junção entre as células da epiderme e protegendo contra a fricção ao atrito (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A camada granulosa é constituída por células poligonais achatadas, com queratohialina coberta por membrana presentes no seu citoplasma e núcleo central. Nessa camada também são encontrados os grânulos lamelares que ajudam na formação da barreira que impede a penetração de fragmentos, além de a pele tornar-se impermeável à água, evitando a desidratação do organismo. A camada lúcida é formada por uma porção de células achatadas, translúcidas e eosinófilas, vários filamentos de queratina são perceptíveis no citoplasma, cobertos por substância elétron-denso. E a camada córnea é formada através de células achatadas, mortas e que não possuem núcleo, além de o seu citoplasma ter queratina em bastante quantidade (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Ainda existem os melanócitos, as células de Merckel e as células de Langerhans que são responsáveis pelos componentes celulares remanescentes. Os melanócitos que possuem sua origem na crista neural, e transferem-se para a epiderme no decorrer da embriogênese, sendo os responsáveis pela produção de melanina (COSTA, 2012).

Adilson Costa (2012) explica sobre a produção da melanina:

A melanina, produzida por meio da atividade enzimática da tirosinase sobre o aminoácido tirosina, é armazenada em estruturas citoplasmáticas chamadas melanossomas, os quais nos estágios mais avançados de maturação são transferidos às regiões dendríticas dos melanócitos e transferidos aos queratinócitos daquela unidade epidermomelânica. O número de melanócitos varia nas diferentes regiões do corpo e aumenta após a exposição repetida à luz ultravioleta. [...] o número de melanócitos é o mesmo nas diferentes cores e também entre homens e mulheres.

As células de Langerhans são bastante ramificadas e estão presentes na epiderme por completo, entre os queratinócitos, apesar disso, são mais sucessivas na camada espinhosa. São originadas através de células da medula óssea que são conduzidas pela circulação do sangue. Ainda, as células de Langerhans são eficazes no recolhimento de antígenos, verifica-os e os expõem aos Linfócitos T, com isso, demonstra a sua importância nas repostas imunológicas cutâneas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

As células de Merckel não possuem origem definida, acredita-se que pode ser proveniente tanto da crista neural quanto das células-tronco epiteliais. Podem ser encontradas na camada basal e também na bainha dos folículos pilosos, com maior espessura na palma das mãos e na planta dos pés. A sua característica essencial é que estas células atuam como mecanorreceptores, ou seja, receptores sensoriais que auxiliam na sensibilidade tátil (COSTA, 2012).

2.1.1.1 Derme

É considerada a camada mediana da pele, que faz a conexão da derme com a epiderme, que diferente desta última, possui vasos sanguíneos, sustentações nervosas e musculares (COSTA, 2012).

A derme é dividida em: derme papilar, formada por tecido conjuntivo frouxo, e a derme reticular, tecido conjuntivo denso não modelado, sendo uma grande porção da derme. Para que haja firmeza na distensão da pele, as fibras colágenas estão arranjadas em sentidos diferentes. Além do mais, as camadas papilares e reticulares possuem em sua formação fibras elásticas que fornecem elasticidade à pele (MONTANARI, 2016).

As papilas dérmicas e as cristas dérmicas ampliam a área de contato que corresponde à derme e a epiderme, fazendo com que assim, a pele obtenha maior resistência (MONTANARI, 2016).

O colágeno possui em sua composição glicina, prolina e hidroxiprolina. Essa proteína além de ser farta no corpo humano, também sustenta a estrutura da pele. Já a proteína elastina, garante a elasticidade da pele, apresentando os aminoácidos desmosina e isodesmosina. A retenção de água na derme se dá pela formação das cadeias longas de carboidratos denominadas glicosaminoglicanos e, que são expressos pela condroitina e pelo ácido hialurônico (COSTA, 2012).

O complexo de células da derme é constituído por fibroblastos, mastócitos, histiócitos e células de Langerhans. Sendo os fibroblastos, originados das células mesenquimais, além de serem formadores de colágeno (COSTA, 2012).

2.1.1.1.1 Hipoderme

Constituída por tecido conjuntivo frouxo é capaz de unir, com menor firmeza, a derme aos órgãos pressupostos. É responsável pela constituição do panículo adiposo que é modelador do corpo e criador de uma fonte de reserva de energia para resguardo contra o frio, caso exista a necessidade (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

2.2 ENVELHECIMENTO CUTÂNEO

O envelhecimento é uma consequência natural de todo e qualquer organismo vivo, porém, não é completamente aceitável pela grande maioria dos humanos (CALDERWOOD apud ENGERS; BEHLING; FRIZZO, 2011).

Segundo Romero, (apud ENGERS; BEHLING; FRIZZO, 2011):

O envelhecimento caracteriza-se por afetar todos os organismos vivos, sendo que, cada espécie possui uma velocidade determinada de declínio funcional. É considerado um mecanismo heterogêneo, progressivo, deletério e irreversível, que conduz a uma redução adaptativa do organismo, aumentando a vulnerabilidade e risco de morte.

O envelhecimento cutâneo trata-se de uma progressão de degenerações morfológicas e funcionais da pele. A pele envelhecida apresenta-se ressecada, franzida e atrófica, enquanto, a pele fotoenvelhecida demonstra mudanças na coloração, rugas, pequenos vasos sanguíneos dilatados visíveis a olho nu e lesões que podem ser consideradas pré-malignas. (COSTA, 2012).

As alterações na pele no período do envelhecimento podem incluir a cicatrização desacelerada de feridas, por conta da habilidade de reprodução dos queratinócitos e fibroblastos, a diminuição das citocinas e o atraso da funcionalidade da barreira depois da lesão. Por conta da diminuição da síntese de lipídeos, a barreira contra a perda de água é danificada. A imunidade cutânea também está comprometida devido à redução das citocinas e a densidade das células de Langerhans. A diminuição da aceleração do reparo do DNA está inversamente correlacionada com a predisposição ao câncer, devido o risco elevado de mutação. Além de todos esses fatores, conforme o envelhecimento ocorre, a aptidão da pele em fornecer formas ativas de vitamina D diminui, bem como as percepções do tato que também são reduzidas (COSTA, 2012).

O envelhecimento ocorre devido certa predisposição, desta forma, acredita-se que o envelhecimento intrínseco, ocorre naturalmente por fatores genéticos, e o envelhecimento extrínseco por fatores externos, como a exposição solar, poluição ambiental, o ato de fumar, são fatores que aumentam e aceleram este envelhecimento (FANDOS apud FERREIRA, 2019).

2.3 ESTRESSE OXIDATIVO E RADICAIS LIVRES

Denham Harman demonstrou em 1956, que a irradiação em seres vivos colaborava com a produção de radicais livres, fazendo com que assim os sinais de envelhecimento fossem notados, concluindo a teoria de que o envelhecimento se resulta devido à lesão ocasionada por radicais livres (PODDA; GRUNDMANN-KOLLMANN apud HIRATA; SATO; SANTOS, 2004).

A formação dos radicais livres é proveniente de oxidações químicas e enzimáticas, aumentando o processo do envelhecimento devido às lesões causadas no DNA e por colaborarem com a desidrogenação, hidroxilação e glicação protéica, nesta última, ocorre ausência das atribuições biológicas de proteínas, assim como o colágeno e proteoglicanas, que causam mudanças na organização da membrana e incremento da flacidez da pele (BERTHON et al, apud HIRATA; SATO; SANTOS, 2004).

2.4 PERIMENOPAUSA, MENOPAUSA, PÓS-MENOPAUSA E CLIMATÉRIO

A perimenopausa, é definida como o período em que se aproxima a menopausa, em que as mudanças hormonais femininas se tornam mais intensas, ocasionando um encurtamento ou alongamento dos ciclos menstruais. A maioria dos ciclos não estão associados a ovulação, ocasionando, às vezes, sangramentos não regulares. Essa irregularidade está relacionada também com a hiper estimulação do estrogênio com divergência da progesterona, tendo como resultado as modificações endometriais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Segundo Guyton e Hall (2011), a denominação da menopausa, se dá quando o ciclo sexual e os hormônios femininos despencam a praticamente zero. Isso ocorre por volta dos 40 e 50 anos de idade, tornando o ciclo irregular e muitas vezes, a inexistência da ovulação.

Segundo Guyton e Hall (2011), o sistema hormonal feminino consiste em três hierarquias:

1. O hormônio de liberação hipotalâmica, o *hormônio liberador de gonadotropinas* (GnRH);
2. Os hormônios sexuais hipofisários anteriores, o *hormônio folículo-estimulante* (FSH) e o *hormônio luteinizante* (LH), ambos secretados em resposta à liberação de GnRH do hipotálamo;
3. Os hormônios ovarianos, estrogênio e progesterona que são secretados pelos ovários, em resposta aos dois hormônios sexuais femininos da hipófise anterior.

Esses hormônios são liberados com veemência desigual, variando de acordo com os diferentes ciclos sexuais feminino (GUYTON; HALL, 2011).

No momento em que a produção de estrogênio fica inferior ao nível crítico, ele não é capaz de inibir a produção das gonodotropinas hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH). Quando está na menopausa, a mulher precisa se reabilitar fisiologicamente devido à perda desses hormônios (GUYTON; HALL, 2011).

A extinção dos estrogênios causa alterações fisiológicas de grande importância, abrangendo os denominados "fogachos" que se trata do rubor exacerbado na pele, sensação psíquica de falta de ar, nervosismo, cansaço, ansiedade e além de os ossos passarem por uma diminuição da sua resistência e calcificação. Esses sintomas são observados em apenas 15% das mulheres, sendo essas, necessitadas de tratamento. Caso a terapia não obtenha sucesso, será necessário a administração diária de estrogênio que, geralmente em pequenas quantidades é capaz de amenizar os sintomas (GUYTON; HALL, 2011).

Durante a pós menopausa, o FSH pode apresentar-se aumentado de 10 a 15 vezes, em contrapartida o LH de 3 a 5 vezes. O estradiol pode ser diminuído em até 80%, sendo assim sucedido pela estrona, sendo esta predominante na pós-menopausa (MINISTÉRIO DA SAÚDE).

A fase do climatério está caracterizada como aquela em que ocorrem alterações hormonais que ocasionam a irregularidade menstrual até que possa ocorrer a amenorreia. Os sinais e sintomas decorrentes dessas alterações podem se manifestar em vários fatores, sendo assim, medidas para uma melhor qualidade de vida precisam ser tomadas, bem como adquirir hábitos saudáveis, como uma alimentação de qualidade, prática de exercícios físicos, capacidade de manter o interesse pelas atividades culturais, profissionais e sociais, fazem com que a mulher se sinta melhor em qualquer idade. A grande maioria das mulheres demonstra algum

sintoma no climatério, podendo variar de leve a intenso, e apesar de no Brasil ser considerado como uma endocrinopatia, ele é definido como fase biológica e não uma doença, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

2.4.1 ALTERAÇÕES NA PELE DURANTE O CLIMATÉRIO

Vários hormônios como os glicocorticoides e os esteroides sexuais desencadeiam a sua ação na pele, dentre elas, é possível destacar a ação anti-inflamatória, inibição da cicatrização e síntese de colágeno, além da ação vasoconstritora. Devido a ocorrência da atrofia da pele visível após a menopausa, há indícios de que os estrogênios e progestógenos atuam motivando a distinção epidérmica e de acordo com que a produção desses hormônios decai, observa-se uma pele seca quando a mulher se encontra climatérica (COSTA, 2012).

2.5 COSMECÊUTICOS

De acordo com Azulay (2013), "[...] os cosmecêuticos são cosméticos ativos capazes de influenciar a função da pele com o intuito de torná-la mais bela."

Os cosmecêuticos possuem a capacidade de melhorar a pele em seu mais profundo pavimento, e não somente camuflar as alterações, possuindo fórmulas mais compostas e semelhantes aos medicamentos dermatológicos, tendo assim uma função cosmética e terapêutica (AZULAY, 2013).

Sabe-se que a matriz extracelular forma a camada dérmica da pele, que é composta por colágeno e proteínas da elastina, que promovem uma pele com uma estrutura firme e com elasticidade, glicoproteínas, glicosaminoglicanos e proteoglicanos. Destes, o colágeno do tipo I é o que mais predomina. Devido a quantidade de produção dos fibroblastos ser controlado por vários hormônios, e conforme ocorre o envelhecimento juntamente com anos de exposição solar, essa produção fica comprometida, colaborando com as alterações indesejadas na pele, como afinamento, rugas e flacidez, por isso, elevar a formação desses componentes da matriz extracelular é o apelo e função principal dos insumos constituintes de um cosmecêutico (HOLTZ, 2019).

2.6 PARTICULARIDADES DE UM PRODUTO COSMÉTICO

Os cosméticos foram definidos como produtos que podem ser aplicados em qualquer parte do corpo humano com finalidade de limpeza, promover beleza ou modificar a aparência, pela Food and Drug Administration (FDA), nos EUA em 1938. No Brasil, os cosméticos são subdivididos em duas categorias, grau 1 e grau 2. Os cosméticos definidos como grau 1, são produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes com formulações básicas que, inicialmente, não apresentam a necessidade de comprovação de sua eficácia. Os cosméticos definidos como grau 2, são produtos específicos para tal finalidade e que necessitam de comprovar a sua segurança e eficácia, além de informar os cuidados, modo e restrições de uso (COSTA, 2012).

A população consumidora dos produtos cosmecêuticos é ampla, e aumenta a cada ano. De acordo com estudos levantados, 25% das mulheres usam em média de 15 a mais produtos por dia. Levando em consideração o aumento do uso desses

produtos sem nenhuma regulamentação específica, e que os cosméticos possuem em sua composição um conjunto complexo de vários insumos, têm-se a consciência de que a vigilância desses produtos não deve ocorrer de forma simples, necessitando verificação do produto final e dos ingredientes que compõem a sua formulação, deixando explícito a necessidade da Cosmetovigilância (COSTA, 2012).

2.7 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE

A avaliação da estabilidade é composta por testes que são capazes de conceder informações que estimam a estabilidade de determinado produto em diversas condições, e auxiliam o formulador a definir o prazo de validade e a escolher a embalagem adequada para o produto. Além de submeter a formulação a situações capazes de acelerarem mudanças em sua estrutura, bem como temperatura elevada, ambiente e baixa, ciclos de exposição à luz, congelamento e descongelamento (COSTA, 2012).

São realizadas avaliações organolépticas com o intuito de identificar alterações como o aspecto, alterações de cor e odor, separação de fase e precipitação. Avaliações físico-químicas que são capazes de indicar alterações na formulação proveniente de incompatibilidade das matérias-primas, como a aferição de pH e viscosidade (COSTA, 2012).

2.8 PRINCÍPIO ATIVO COM PROPRIEDADES REESTRUTURANTES DA PELE

2.8.1 Niacinamida

A Niacinamida é a forma amida da niacina conhecida como vitamina B3. Trata-se de um integrante primordial de coenzimas tais como, dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD), fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADP) e suas formas reduzidas (NADH e NADPH), que fazem parte de várias reações de oxidação e redução. Devido várias dessas reações dar-se na pele, o uso tópico da Niacinamida favorece as funções da barreira cutânea, reduzindo a perda de água transepidermal, além de melhorar a hidratação da camada córnea (MOHAMMED, et al; GEHRING apud PORTILHO, 2016).

2.8.2 *Camellia sinensis* Extract – Extrato de Chá Verde

O chá verde é originário da espécie *Camellia sinensis* L. (*Theaceae*), um arbusto que pode crescer até 9 metros e que apresenta folhas verdes escura, ovais e com margem aparentemente serradas. O composto imprescindível do chá verde é o galato de epigallocatequina, que pode ser encontrado com concentração de até 50% na infusão conseguida da planta. Destaca-se o 3-galato de (-)epigallocatequina (EGCG) como um dos polifenóis encontrados na planta que possui diversas propriedades biológicas, possuindo direta ou indiretamente função antioxidante (SCHULZ et al., apud CAVALCANTI, et al, 2007).

O resultado de antienvelhecimento do chá verde é decorrente da inibição das lesões oxidativas UVB induzidas pelas metaloproteinases da matriz que danificam proteínas extracelulares, sendo assim, ocasiona vigoroso efeito anti-aging (SCHULZ et al., apud CAVALCANTI, et al, 2007). E ainda, o recurso terapêutico com EGCG diminui os males UV causados na pele, como ressecamento, redução dos níveis de

colágeno e oxidação dos fibroblastos (MUKHTAR & AHMAD, 1999; GOUNI-BERTHOLD & SACHINIDIS, 2004; PRADO et al., 2005; VAYALIL et al., 2004, apud CAVALCANTI, et al., 2007).

2.8.3 Peptídeos de colágeno hidrolisado do tipo I – Collys®

O colágeno é uma proteína abundantemente presente nos tecidos do organismo, encontrado nos ossos, músculos, pele e entre outros. Reflete cerca de 30 a 35 % da quantidade total de proteínas do organismo, além de ser encarregado pela elasticidade e regeneração dos tecidos. Dos aminoácidos que fazem parte da composição do colágeno, a Hidroxiprolina e a Glicina se encontram em maior proporção (GALENA, 201-).

Conforme acontece o envelhecimento, a produção de colágeno diminui devido a redução da taxa de renovação celular, dessa forma, a pele fica menor firme, tornando-se flácida e com rugas (GALENA, 201-).

2.8.4 Glycerin (1) (and) *Anigozanthos flavidus* extract (2) – Skinectura

Glycerin (1) (and) *Anigozanthos flavidus* Extract (2) é um extrato aquoso denominado SKINectura. Trata-se de um extrato natural da flor *Anigozanthos flavidus*, conhecida como Kangaroo Paw por ter semelhança com a pata do animal de origem australiana. As flores podem crescer até dois metros de altura e possui néctar abundante, por isso, possui uma grande quantidade de açúcar natural, proporcionando efeito tensor imediato nas formulações cosméticas. A flor também possui em sua propriedade flavonoides, um grupo de antioxidantes que auxiliam na redução dos radicais livres que são prejudiciais à pele (TECHNICAL FILE, 201-, tradução nossa).

2.8.5 Ácido Hialurônico de baixo peso molecular - Hyaluronic Acid

O Ácido Hialurônico (HA) trata-se de uma macromolécula pertencente à classe dos glicosaminocanos e não sulfatado, sendo formado pelo ácido glucorônico e N-acetilglicosamina. A origem do HA pode ser animal, podendo ser encontrado no fluido sinovial da derme e articulações, cordão umbilical, crista de galo, humor vítreo e o de origem sintética é retirado da fermentação bacteriana do *streptococcus spp.* (FERREIRA, CAPOBIANCO apud THOME et al, 2020; SURI, SCHMIDT apud OLIVEIRA, 2009).

O HA é encontrado em abundância na matriz extracelular da derme, e com o envelhecimento da pele tem alterações em sua expressão e em seu metabolismo enzimático. Nos cosméticos, o AH é muito utilizado devido sua característica higroscópica que, quando hidratado pode aumentar 1000 vezes o seu tamanho em moléculas de água, possuindo alta capacidade hidratante da pele (OLIVEIRA, 2009).

2.8.6 Dimetilaminoetanol – DMAE

O DMAE é uma molécula pequena, cujo penetra facilmente na pele, pode ser encontrado em alguns peixes, como a sardinha e possui forte odor característico de amina. Entrou no ramo dos cosméticos após uma observação em pacientes que o utilizavam por via oral, e obtiveram enrijecimento na musculatura do pescoço. A

partir de então, estuda-se o DMAE buscando uma comprovação dos efeitos que combatem a flacidez, reduz as rugas e promovem efeito tensor imediato (efeito *lifting*) (CAPATTO, 2008).

A estrutura do DMAE é análoga da colina, fazendo com que aumente a biossíntese de acetilcolina na derme e no sistema nervoso central. A acetilcolina possui função de citotransmissor, se ligando a receptores em células como queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais, fazendo com que ocorra várias alterações como proliferação, migração e diferenciação. O DMAE também possui ação antiinflamatória e antioxidante (FONSECA, apud CAPATTO 2008).

3. METODOLOGIA DA PESQUISA

A metodologia tratou-se de uma pesquisa qualitativa e experimental que teve como objetivo o desenvolvimento de um cosmecêutico facial contendo associação de ativos para prevenir e amenizar os efeitos do climatério na pele. O estudo foi elaborado no laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de uma Indústria Farmacêutica situada no município de Serra no Estado do Espírito Santo, no período de 20/07/2020 à 03/11/2020. Além de revisão bibliográfica de artigos de plataformas como Scielo e Pubmed, e livros com publicações entre os anos de 2000 e 2020.

Foram desenvolvidas três emulsões: a primeira não obteve a viscosidade desejada e por esse motivo foi descartada de imediato; as outras duas formulações denominadas A e B, se diferem apenas no quesito de a formulação B conter neutralizante de polímero.

Estudos padrões foram realizados com as formulações tais como estudos de estabilidade acelerada, com análises físico-químicas (aferição de pH, viscosidade, microscopia e centrifugação) organolépticas (verificação de aspecto, cor e odor) e microbiológica. A formulação A foi armazenada em três ambientes durante 90 dias, a formulação B por 30 dias, em estufa de temperatura elevada (45°C), estufa de temperatura ambiente (25°C) e em estufa de temperatura baixa (5°C), para avaliação da estabilidade acelerada. As amostras das formulações foram inseridas nos ambientes em recipiente de vidro transparente com tampa, não sendo preenchido por completo, deixando um espaço denominado *Head Space*, sugerido pelo Guia de estabilidade de formulações cosméticas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

3.1 Materiais

Os insumos utilizados foram escolhidos de acordo com as suas propriedades através de revisão bibliográfica. Para compor a base do produto, utilizou-se: água deionizada, polímero, conservantes, pigmento de efeito, ceras e emolientes, que permanecerão em confidência. Os insumos, denominados ativos que são capazes de modificar a estrutura da pele, estão descritos no quadro abaixo:

Quadro 1 – Identificação dos ativos componentes da fórmula.

Nome Comercial	INCI (Nomenclature of Cosmetic Ingredients)
Colllys®	De-odorized Hydrolysate of Marine Collagen
DMAE	Dimethyl Mea
Extrato de Chá Verde	<i>Camelia Sinensis Extract</i>

Ácido Hialurônico	Hyaluronic Acid
Niacinamida	Niacinamide
Skinectura®	Glycerin (and) <i>Anigozanthos Flavids Extract</i>

Fonte: Elaboração Própria, 2020.

3.2 Métodos

O procedimento experimental foi o mesmo para as duas formulações e dividido em 7 fases denominadas com as letras do alfabeto de A-G.

Foi realizado a dispersão do polímero em água deionizada através do agitador Fisatom com hélice centrífuga em agitação constante de aproximadamente 600 rpm (rotação por minuto), adicionou-se os demais componentes dessa fase e manteve-se a agitação por 3 minutos, em seguida, deixou-se o preparo em repouso durante 30 minutos, para que ocorresse a hidratação do polímero, essa fase foi denominada como fase A.

Adicionaram-se os itens da fase oleosa, denominada fase B e utilizou-se uma chapa aquecedora em 80 – 85°C e agitador em 800 rpm para devida solubilização e homogeneização, em paralelo aqueceu-se a água deionizada da fase C em 80 – 85°C. Após completa fusão da fase B, adicionou-se lentamente sob esta, a fase C. Aumentou-se a agitação para 1000 rpm por 10 segundos. Com a agitação em 1200 rpm adicionou-se sobre o sistema a fase A, mantendo a velocidade por 1 minuto. Para a formulação B, após esse procedimento, adicionou-se o neutralizante. Com a temperatura em 80°C manteve-se a agitação em 800 rpm durante 15 minutos.

Retirou-se o sistema do aquecimento e manteve-se a homogeneização em 800 rpm até a obtenção de 40°C, adicionou-se o conservante, denominada fase D e os ativos da fase E, sendo nesta um item de cada vez. Manteve-se a homogeneização durante 5 minutos.

Prosseguiu-se com a adição da solubilização do pigmento de efeito, denominada fase F, e em seguida a adição lentamente do polímero da fase G, com um aumento da agitação em 1200 rpm. Em seguida, homogeneização em 800 rpm durante 10 minutos.

3.2.1 Análise de centrifugação

O teste de centrífuga é um método que através da rotação, é capaz de acelerar a separação de fases da emulsão. Adicionou-se 20 gramas de cada formulação em dois tubos de ensaio, e em seguida submeteu-os a centrifugação na centrífuga KC8 Kindly com rotação 3000 rpm durante 30 minutos em 25°C.

3.2.2 Análise de viscosidade

Para determinar a viscosidade, retiraram-se as amostras dos ambientes (temperatura elevada, temperatura baixa e ambiente) para que atingisse a temperatura de 25°C, em seguida, determinou-se a viscosidade, utilizando o viscosímetro Brookfield DV1. Centralizou-se e mergulhou-se o *Helipath Spindle* número 95 com rotação de 0,3 rpm no recipiente contendo a amostra da formulação, a cada 10 segundos anotou-se um valor de viscosidade na unidade de medida em *centiPoise* (cP), totalizando 1 minuto com 6 anotações para cálculo de média.

3.2.3 Análise de pH

Determinou-se o pH utilizando o pHmetro Metrohm 913 pH Meter, brevemente calibrado com soluções tampão. Mergulhou-se o eletrodo no recipiente contendo a amostra da formulação a 25°C, após estabilização do valor do pH, registrou-se.

3.2.4 Análise Microscópica

A microscopia da formulação foi realizada em Microscópio ótico OPTON. Colocou-se a emulsão na lâmina em seguida cobriu-a com a lamínula e visualizou-se com a objetiva de 4x de aumento realizando ajustes no foco através do macrométrico.

3.2.5 Análise Microbiológica

Para análise microbiológica, foram necessários os seguintes materiais e procedimentos:

Quadro 2 – Materiais utilizados para análise microbiológica.

Materiais	Propriedades
Tubo de caldo D/E (caldo neutralizante Dey/Engley)	Meio de cultura destinado à inativação de conservantes e desinfetantes, bem como a recuperação de microrganismo em cosmético.
Placa HC Ágar	Meio de cultura para uso com Polisorbato 80 destinado à quantificação de fungos (bolores e leveduras) em cosméticos.
Placa Ágar TSA	Meio de cultura utilizado para o isolamento e cultivo de microrganismos fastidiosos e não fastidiosos (Mesófilos/bactérias).
Placa Ágar Vogel Johnson	Meio de cultura destinado a identificação presumida de <i>Staphylococcus spp.</i>
Placa Ágar Cetrimide	Meio de cultura destinado ao isolamento e identificação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Placa Ágar MacConkey	Meio de cultura utilizado para detecção e isolamento de microrganismo gram-negativos.

Fonte: Elaboração própria, 2020.

Procedimento:

Pesou-se 1 grama do produto dentro do tubo de caldo D/E. Tampou-se o tubo e agitou-se levemente, em seguida manteve-se em repouso de 10 a 15 minutos.

Transferiu-se 0,1 ml da mistura do tubo de caldo D/E para as placas HC Ágar e Ágar TSA. E em seguida, espalhou-se o líquido na placa em forma de "8", com a alça de Drigalski.

Incubou-se as placas da seguinte maneira:

Placa HC Ágar em estufa 25° +/- 2°C por 72 h;

Placa ÁGAR TSA em estufa 35° +/- 2° C por 72 h;

Tubo de Caldo D/E com a amostra em estufa 35° +/- 2° C.

Após 48 h, realizou-se repique na Placa Seletiva Tri partida Ágar Vogel Johnson/ Cetrimide/ Macconkey.

Transferiu-se 0,1 ml da mistura do tubo de caldo D/E para a Placa Seletiva Tripartida Ágar Vogel Johnson/ Cetrimide/ Macconkey, passando pelo processo de incubação por mais 24 horas.

Todas as análises ocorreram dentro da capela de fluxo laminar.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ATIVOS

O cosmeceútico elaborado teve como objetivo ser eficaz contra as alterações na pele causadas pelo envelhecimento natural e no período climatérico, sendo este período um potencializador das alterações devido a queda de hormônios femininos importantes. Por isso, buscando aumentar e estimular a produção de colágeno e ácido hialurônico, reparação da barreira cutânea, hidratação e clareamento da pele, mecanismos inovadores com capacidade de regular proteínas, além de ação antioxidante para auxiliar na defesa contra o envelhecimento, os ativos escolhidos possuem essas finalidades que são comprovadas através de artigos e informes científicos.

4.1.2 SKINectura (Glycerin (1) (and) *Anigozanthos Flavids* Extract (2))

Trata-se de um extrato inovador, ainda pouco conhecido, porém proprietário de vários benefícios, que indicam trazer novamente a aparência de uma pele mais jovem reestruturando a constituição da derme fortalecendo-a, além de ser o primeiro ingrediente a relatar sobre a síntese da Tenascina-X que é uma glicoproteína recentemente descoberta e que foi localizada na matriz extracelular da derme (TECHNICAL FILE, 201-).

O principal local de expressão da Tenascina-X está no tecido conjuntivo do coração e músculo esquelético, assim como na derme. Em um experimento, foi criado um modelo de camundongo com deficiência de Tenascina-X, nestes camundongos foi possível verificar que as fibras de colágeno da pele eram normais em estrutura e tamanho, porém seu número foi reduzido, sugerindo que a Tenascina-X é um regulador importante da degradação de colágeno pelos fibroblastos dérmicos. Além disso, foi indicado que a Tenascina-X é capaz de ligar-se no proteoglicano Decorina e contribuir para o equilíbrio das fibras de colágeno. O mecanismo em si de como a Tenascina-X interfere na deposição de colágeno, ainda é desconhecido. (Mao JR , Taylor G. , Dean WB, et al; Elefteriou F. apud, Ruth Chiquet-Ehrismann, Mathias Chiquet, 2003, tradução nossa).

Além disso, SKINectura age na síntese de pro-colágeno I, que é precursor do colágeno tipo I, e que conforme ocorre o envelhecimento humano, se esgotam, ocasionando as rugas e atrofia da pele. Em um estudo de eficácia realizado pelo fabricante Southern Cross Botanicals, o SKINectura foi testado nas concentrações de 0,05 e 0,1%, para esta avaliação da síntese de pró-colágeno I, foi estimada através do ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e nas concentrações de 0,05 e 0,1% o ativo foi capaz de aumentar consideravelmente a síntese de pro-colágeno I em 102 e 136%. (TECHNICAL FILE, 201-)

4.1.3 Niacinamida

Os produtos denominados hidratantes que possuem a Niacinamida como ativo, são reconhecidos por melhorarem a função da barreira do estrato córneo e amenizarem o desconforto da pele seca. Esses cosmecêuticos revelaram conceder aumento da espessura do estrato córneo próximo a 10%, aumento dos níveis de ácidos graxos e ceramidas, e a redução da perda transepidermal de água (PORTILHO, 2016).

Um estudo realizado por Mohamed et al, contando com a colaboração de 20 voluntários, mostrou através de aplicações de um produto contendo 5% de Niacinamida no antebraço direito e esquerdo, utilizado 2 vezes ao dia por um período de 28 dias que é possível observar redução na perda transepidermal de água e acréscimo da espessura do estrato córneo, maior tamanho dos corneócitos, sendo estes também observados mais maduros, e ainda, redução da atividade inflamatória (PORTILHO, 2016).

A Niacinamida também obteve bom resultado para clareamento da pele devido hiperpigmentações, como o melasma. Em um ensaio clínico duplo-cego randomizado, com a colaboração de 27 mulheres com melasma, realizou-se aplicação da Niacinamida e Hidroquinona a 4%, sendo as voluntárias orientadas a aplicar a quantidade correta juntamente com um filtro solar de FPS 50 a cada 3 horas durante o dia, o tratamento foi realizado por 8 semanas e no final do estudo, realizou-se uma biopsia de 2 mm do lado tratado com Niacinamida. Como resultado, nas biopsias foi possível observar que a quantidade de melanina na epiderme e o infiltrado inflamatório diminuíram consideravelmente, mostrando que a Niacinamida a 4% é um tratamento eficaz para a hiperpigmentação crônica (SOLÍS, 2011, tradução nossa).

4.1.4 Dimetilaminoetanol – DMAE

Dentre os produtos da atualidade mais esperados, estão aqueles que possuem um efeito imediato na pele, que são capazes de promover uma percepção de efeito tensor, de acordo com esse privilégio, a escolha do DMAE para composição do cosmecêutico. A percepção é devidamente observada em um estudo elaborado por Tadini & Maia Campos (2004), onde foi possível observar um efeito após 2 horas da aplicação do DMAE (CAPATTO, 2008).

Das diversas vantagens de se utilizar o DMAE pode-se considerar o fato de não causar descamações e seu efeito pode ser observado em 30 minutos após a aplicação. Seu uso é recomendado de 1 a 2 vezes ao dia para aplicação tópica, com uma ampla faixa de concentração, variando de 3 a 10% (LOPES & GRATIERI, apud CAPATTO, 2008).

Cole et al (2002) elaboraram um estudo com o intuito de relatar as avaliações clínicas e melhoria na aparência da pele, após a utilização do DMAE no período de um mês. Foram submetidas ao estudo, 50 voluntárias com idade entre 35-55 anos, que apresentavam alterações na pele, proveniente do envelhecimento. As avaliações clínicas foram realizadas no início do estudo e após quatro dias, duas e quatro semanas, durante esse período não foram observados quaisquer efeitos adversos, as participantes relataram melhora em variadas partes da face, afirmando firmeza e redução das rugas sob e ao redor dos olhos (CAPATTO, 2008).

4.1.5 *Camellia sinensis* Extract – Extrato de chá verde

Em uma revisão bibliográfica sobre a eficácia *anti aging* do chá verde (NEVES, SCHULTZ 2017), foram abordadas várias características, incluindo o seu efeito antirrugas e efeito antioxidante, benefícios que são importantes para as mulheres climatéricas.

Os polifenóis que estão presentes no chá verde são capazes de promover efeito antirrugas por meio da collagenase, abalando a atividade enzimática direta e diminuindo quantitativamente esta enzima (MADHAN et al, apud NEVES, SCHULTZ 2017).

Em outros estudos, também relatam que os polifenóis do chá verde são capazes de inibir a expressão de collagenase. Bae et al (2008), descreveram que EGCG é capaz de suprimir a degradação do colágeno em fibroblastos dérmicos humanos com exposição à radiação UVB (MADHAN et al, apud NEVES, SCHULTZ 2017).

4.1.6 Ácido Hialurônico de baixo peso molecular - Hyaluronic Acid

Levando em consideração as maiores vantagens, e tecnologia, selecionou-se o HA de baixíssimo peso molecular (8kDa) para fazer parte da composição da fórmula, pois ele possui uma maior permeabilidade em comparação ao HA convencional, e por conta dessa maior permeabilidade, ocorre a retenção de água na matriz intercelular do tecido conjuntivo, aumentando consideravelmente a elasticidade, além de preencher a pele, tendo como ponto positivo o fato de não ser necessário a realização de procedimentos invasivos como as injeções de HÁ (NUTRIFARM, 201-).

Em um teste IN VITRO de permeabilidade utilizando uma pele artificial 3D realizado pelo fabricante SK BIOLAND, o HA de baixíssimo peso molecular (8kDa) demonstrou permeabilidade 18 vezes maior em comparação ao HA convencional, apresentando maiores e melhores efeitos na proliferação celular, estímulo de HS2 (Hyaluronan Synthase 2) e na síntese de colágeno. No teste IN VIVO, realizado em 22 mulheres na faixa etária de 45 anos, portadoras de rugas na região dos olhos, com aplicação de uma loção com placebo e outra com o HA à 0,2% (8kDa) durante 8 semanas, foi possível observar diminuição na profundidade das rugas (NUTRIFARM, 201-).

4.1.7 Peptídeos de colágeno hidrolisado do tipo I – COLLYS

Embora não tenham sido encontrados estudos que demonstrem a eficácia desse insumo, a perspectiva é grande, pois o peptídeo de colágeno marinho hidrolisado tipo I, possui excelente disponibilidade devido seu baixo peso molecular (<2000 daltons). É obtido através da pele de peixes *Gadidae sp*, com grande quantidade de Glicina e Hidroxiprolina, fundamentais para a formação das fibras de colágeno. Sabe-se que com o envelhecimento, a produção dos fibroblastos diminui, e os peptídeos de colágeno podem atuar como mensageiros, estimulando os fibroblastos e proporcionando a síntese e reorganizando as fibras de colágeno (GALENA, 201-).

4.2 FORMULAÇÕES

As formulações possuem a mesma base e ativos, apenas se diferenciam na adição de neutralizante, pois após observar variações na viscosidade em T60 (em sessenta dias) da formulação A, questionou-se se a adição de um neutralizante ajudaria a

manter a variação mais branda. Desta forma, elaborou-se a formulação B, a qual permaneceu em tempo menor de análise.

Na formulação A obteve-se um produto de cor bege clara e na formulação B, o produto ficou ligeiramente alaranjado devido variação de cor do Extrato de Chá verde, que não se tratava do mesmo lote do primeiro teste. As duas formulações obtiveram boa percepção visual e sensorial agradável, sendo submetidas aos testes.

4.3 ANÁLISE DE CENTRIFUGAÇÃO

Na análise de centrifugação, as amostras não apresentaram separação de fase, dando a segurança inicial de que o produto possui tendência à estabilidade, e com essa condição, foi submetido aos demais testes.

4.4 ANÁLISE ORGANOLÉPTICA

A análise organoléptica ocorreu a cada 7, 15, 30, 60 e 90 dias para a formulação A e a cada 7, 15 e 30 dias para a formulação B. Foi avaliada de forma visual e olfativa tendo como base para comparação a amostra de temperatura baixa, a qual geralmente permanece com as suas características originais intactas, possibilitando facilidade de observação das alterações nos demais ambientes, caso ocorra.

Quadro 3 – Resultados da avaliação organoléptica da formulação A e B em temperatura baixa

Temperatura Baixa ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$)								
Formulação A						Formulação B		
Tempo	T7	T15	T30	T60	T90	T7	T15	T30
Aspecto	N	N	N	N	N	N	N	N
Cor	N	N	N	N	N	N	N	N
Odor	N	N	N	N	N	N	N	N

Legenda: N – Normal. Fonte: Elaboração própria, 2020.

Quadro 4 – Resultados da avaliação organoléptica da formulação A e B em temperatura ambiente

Temperatura Ambiente (25±2°C)								
	Formulação A					Formulação B		
Tempo	T7	T15	T30	T60	T90	T7	T15	T30
Aspecto	N	N	N	N	N	N	N	N
Cor	N	N	N	N	LM	N	N	LM
Odor	N	N	N	N	N	N	N	N
Observações					LM – Ligeiramente escuro			LM – Ligeiramente escuro

Legenda: N – Normal; LM – Ligeira Mudança. Fonte: Elaboração própria, 2020.

Quadro 5 - Resultados da avaliação organoléptica da formulação A e B em temperatura elevada

Temperatura Elevada (44±2°C)								
	Formulação A					Formulação B		
Tempo	T7	T15	T30	T60	T90	T7	T15	T30
Aspecto	N	N	N	N	N	N	N	N
Cor	N	LM	MM	MM	MM	N	LM	MM
Odor	N	N	N	LM	MM	N	LM'	MM
Observações		LM – Ligeiramente escuro		LM – Odor acentuado			LM – Ligeiramente escuro LM' – Odor acentuado	

Legenda: N – Normal; LM – Ligeira Mudança; MM – Mudança Mantida. Fonte: Elaboração própria, 2020.

De acordo com os quadros acima, é possível observar que as duas formulações não obtiveram alterações organolépticas nas temperaturas baixa durante todo o período de avaliação. Em temperatura ambiente, observou-se ligeiro escurecimento do produto na última análise das formulações, sendo a formulação B de maior percepção devido a sua diferença de cor.

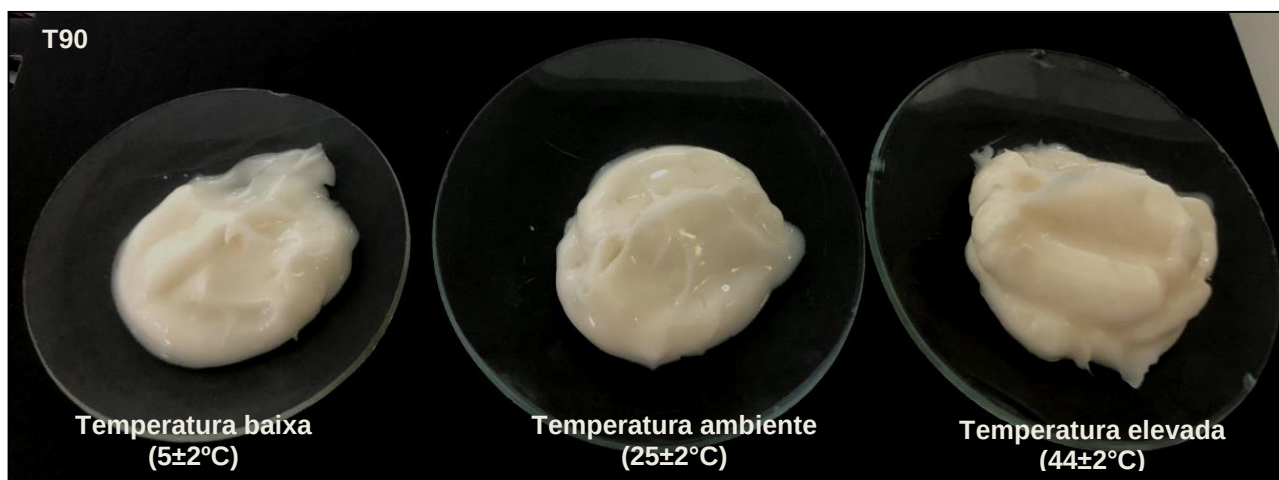
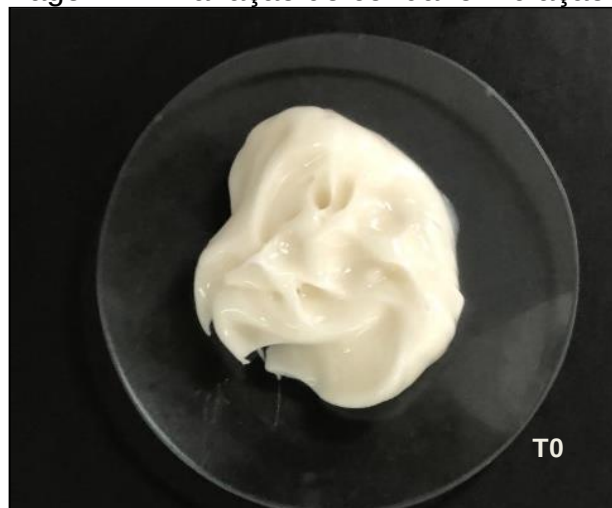
Em temperatura elevada observou-se escurecimento da cor e odor nas duas formulações. De acordo com o Guia de Estabilidade da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2004), a temperatura elevada acelera as reações físico-químicas, tornando essas alterações frequentes e já esperadas, e, por essa condição, os resultados obtidos devem ser avaliados cuidadosamente.

Aparentemente as formulações não apresentam incompatibilidade física, pois segundo o Guia de Estabilidade da ANVISA (2004) essas incompatibilidades podem ser observadas por precipitação, separação de fases, cristalização, entre outras.

Alterações que não foram observadas nas formulações, indicando que elas possuem tendência à estabilidade.

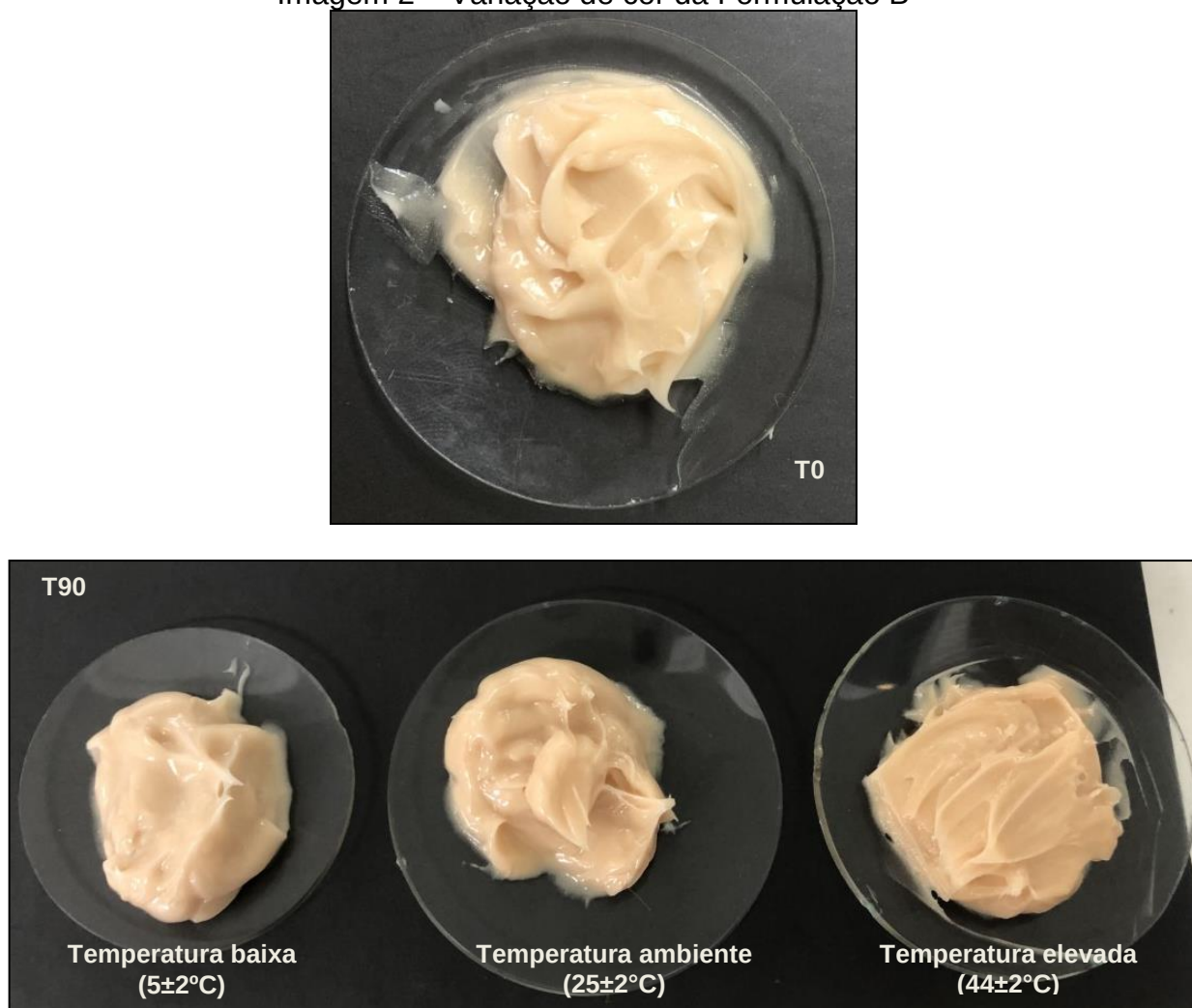
As imagens abaixo foram registradas em T0 (tempo zero) na primeira hora após a manipulação e antes da formulação ser submetida aos ambientes de armazenamento (temperatura baixa, ambiente e elevada), e em T90 (noventa dias) para a formulação A, e T30 (trinta dias) para a formulação B, após concluírem o estudo de estabilidade.

Imagem 1 – Variação de cor da formulação A



Fonte: Própria, 2020.

Imagem 2 – Variação de cor da Formulação B

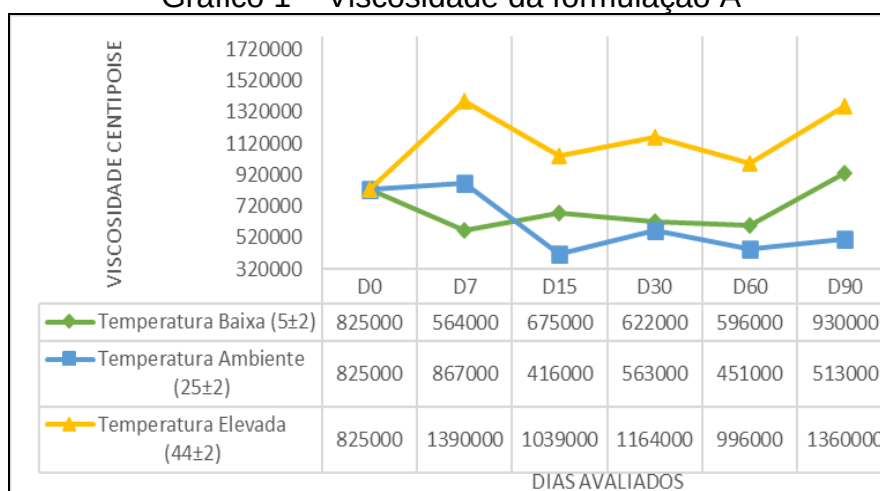


Fonte: Própria.

4.3 ANÁLISE DE VISCOSIDADE

De acordo com o gráfico 1 referente à formulação A, é possível observar variação da viscosidade em todos os ambientes e em praticamente todas as análises durante os dias avaliados.

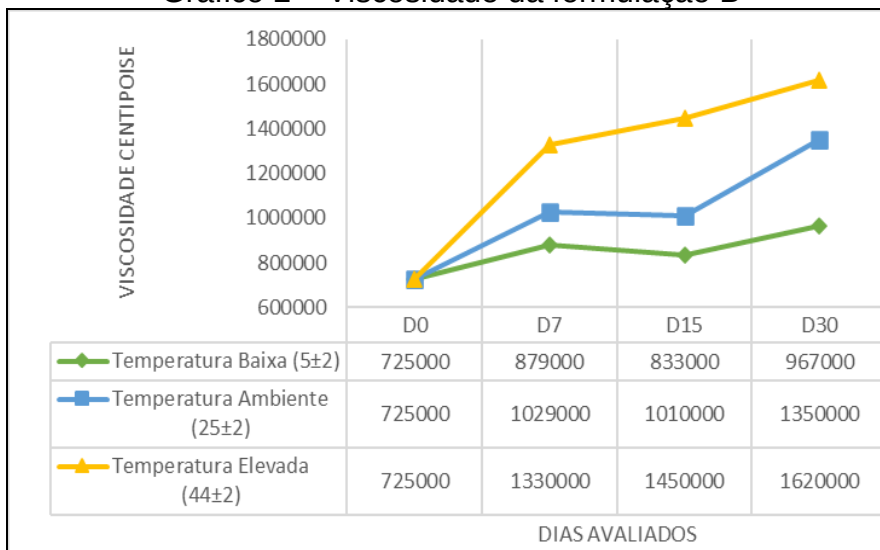
Gráfico 1 – Viscosidade da formulação A



Fonte: Elaboração própria, 2020.

Em contrapartida, de acordo com o gráfico 2 referente à formulação B, observa-se incremento da viscosidade em todos os ambientes praticamente de forma semelhante, com apenas uma ligeira oscilação em D15 observada em temperatura baixa e ambiente, o que levanta a suposição de ser comportamental do produto, visto que posteriormente, o incremento se manteve, além de menores variações em comparação à formulação A.

Gráfico 2 – Viscosidade da formulação B



Fonte: Elaboração própria, 2020.

Baseado no fato de que as análises de estabilidade não foram realizadas em triplicata e que isso desfavorece a compreensão e afirmação correta das alterações, levantou-se hipóteses para justificar esses resultados. Uma delas pode ser a evaporação da fase aquosa citada em um trabalho realizado por Oliveira (2009) que desenvolveu-se formulações cosméticas incluindo emulsões, e observou-se um comportamento parecido em relação ao incremento de viscosidade, em que as emulsões que ficaram por 90 dias em temperatura elevada, também registraram aumento de viscosidade devido a evaporação da fase aquosa.

Essa justificativa também foi dada em um trabalho realizado por Silva et al (2019), ressaltando que esse aumento da viscosidade não interferiu na qualidade do produto o classificando como "normal", pois o pH e as características organolépticas também permaneceram estáveis.

O comportamento anômalo da viscosidade da formulação A, pode estar relacionado com a utilização dos insumos, uma vez que eles podem possuir incompatibilidades entre si, assim como foi citado em um artigo elaborado por Tsolis e Camacho (2018), em que citam os problemas de uma estabilidade.

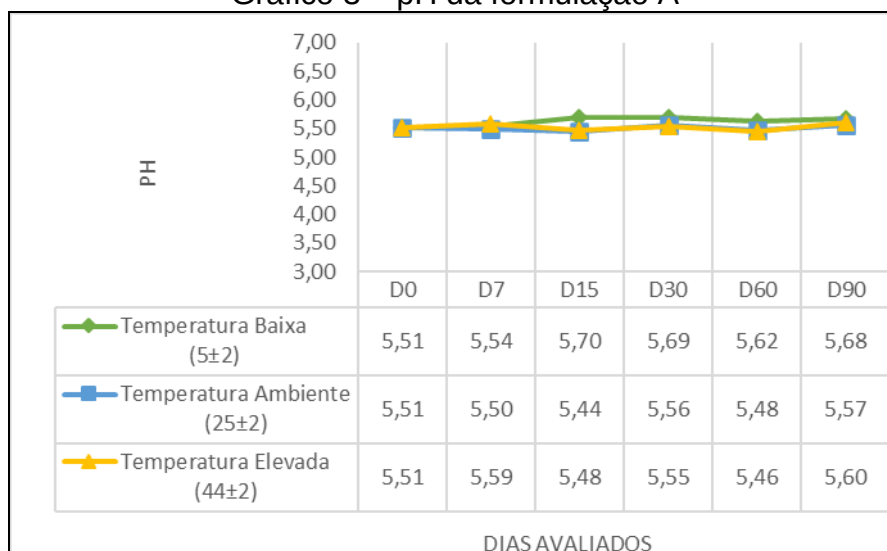
Não foi possível encontrar artigos e trabalhos semelhantes que relatem que a utilização de um neutralizante de polímero é um fator que auxilia na manutenção da viscosidade, portanto, sendo possível a observação de que na formulação B, após a adição do neutralizante, a emulsão apresentou melhor comportamento da viscosidade, se mantendo em nível crescente e não oscilando tanto quanto a primeira formulação supõe-se que a devida neutralização do gelificante foi capaz de sustentar e manter uma melhor viscosidade.

E ainda, segundo o Guia de estabilidade da ANVISA (2004), os limites de aceitação da viscosidade devem ser determinados pelo formulador do produto, desde que leve em consideração a percepção visual e sensorial após o incremento da viscosidade, e inclusive, estar ciente da possibilidade de o consumidor também possuir a mesma percepção.

4.4 ANÁLISE DE pH

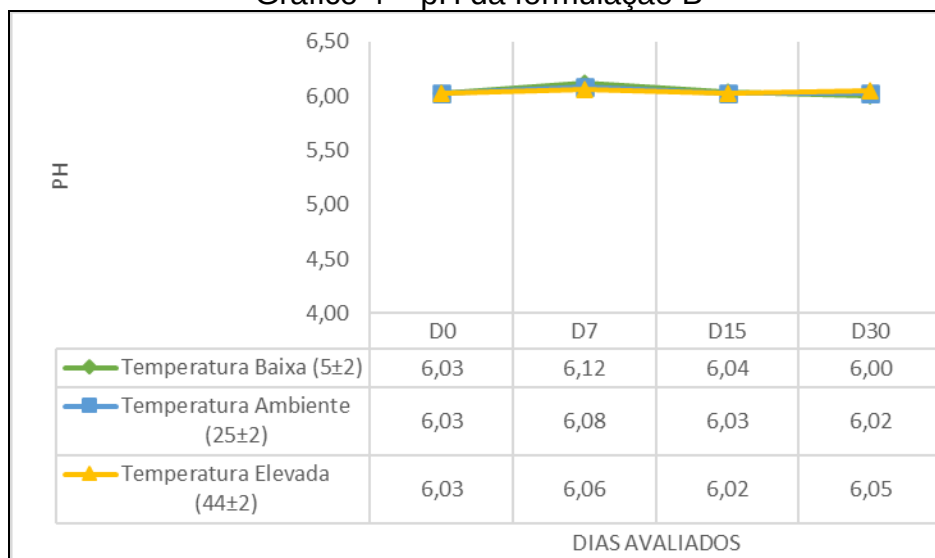
Nas análises de pH foi possível observar oscilações semelhantes nas duas formulações.

Gráfico 3 – pH da formulação A



Fonte: Elaboração própria, 2020.

Gráfico 4 – pH da formulação B



Fonte: Elaboração própria, 2020.

O pH das formulações obtiveram oscilações aceitáveis durante o período de avaliação, apresentando estabilidade, uma vez que ligeiras oscilações são normais, além de estar em conformidade com o pH da pele que citado em um artigo semelhante, a pele possui pH levemente ácido, por isso a importância dos cosméticos possuírem pH compatível. (RODRIGUES; MAIA CAMPOS apud SEIXAS, 2014)

4.5 ANÁLISE DE MICROSCOPIA

A microscopia teve como finalidade mostrar se a emulsão apresenta alguma instabilidade, sendo útil para a identificação de separação de fases, cristais ou particulados no produto, sendo este último proveniente de quando um insumo não é completamente solubilizado.

Foram realizadas análises de microscopia de uma amostra da temperatura ambiente em T0 (antes de iniciar o estudo de estabilidade) e T90 (após término do estudo de estabilidade) para a formulação A e T30 para a formulação B, e as imagens foram capturadas através da câmera de um smartphone.

Imagem 2 – Microscopia da formulação A com a objetiva de aumento 4x

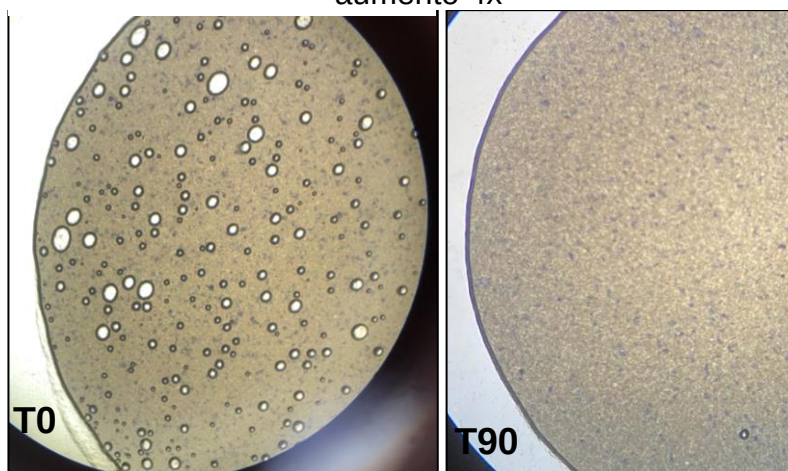
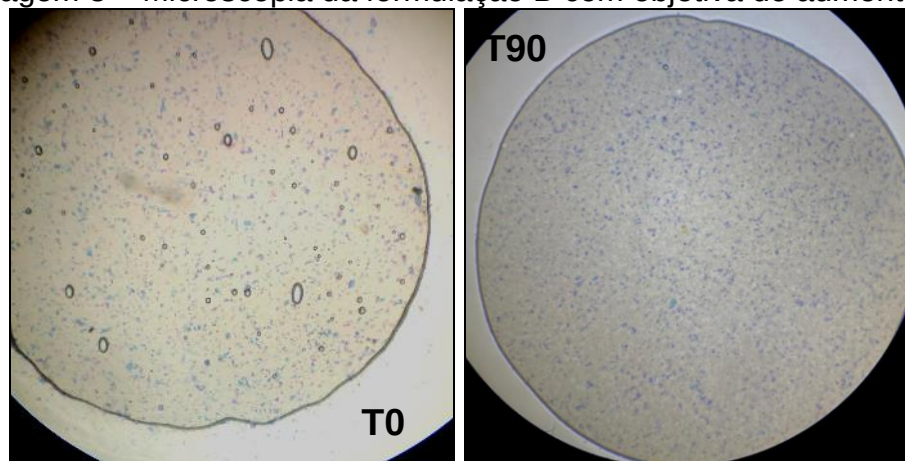


Imagem 3 – Microscopia da formulação B com objetiva de aumento 4x



Fonte: Própria.

Através da microscopia das duas formulações, é possível observar bolhas de ar em T0, sendo maior observada na formulação A, supondo que houve uma maior agitação durante o processo de manipulação, em T90 essas bolhas praticamente somem, compactuando com o possível motivo do aumento da viscosidade.

As bordas são definidas, o que indica que não há separação de fases, além de que cristais não foram observados. Porém, observam-se fragmentos azuis que levantam a hipótese de serem particulados de algum insumo, em especial, acredita-se que seja particulado do polímero que não se dispersou corretamente.

4.6 ANÁLISE DE MICROBIOLOGIA

O laudo de análise microbiológica obteve o resultado de acordo com os índices de aceitação de microrganismos descritos da Farmacopéia Brasileira (2019) para as duas formulações avaliadas, sendo consideradas aprovadas, mostrando que as Boas Práticas de Manipulação foram seguidas e que o uso do conservante foi eficaz.

Quadro 6 – Resultado microbiológico das Formulações B e C

TESTE	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS
Contagem total de Mesófilos	< 500 UFC/g	< 10 UFC/g
Bolores e Leveduras	< 100 UFC/g	< 10 UFC/g
<i>S. aureus</i>	AUSENTE	AUSENTE
<i>P. Aeruginosa</i>	AUSENTE	AUSENTE
<i>E. Coli</i>	AUSENTE	AUSENTE

Fonte: Elaboração própria, 2020.

Uma preparação cosmética está sujeita a contaminação microbiológica, tanto por bactérias quanto por fungos, quando esta ocorre, é possível observar cor e odor diferentes, aspecto turvo, separação de fases e fermentações, que podem ser provenientes da água, equipamentos, vidrarias e da falta das Boas Práticas de Manipulação, por isso, é necessário que na composição exista conservantes capazes de preservar o produto.

Nas formulações executadas foi utilizado o conservante Fenoxietanol (Phenoxyetanol). O fenoxietanol trata-se de um éter e álcool aromático, possui um amplo espectro de função antimicrobiana e é eficaz contra bactérias gram-negativas como as *Pseudomonas aeruginosa* e Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, além de ser eficaz contra leveduras. A atividade antimicrobiana do fenoxietanol se dá desacoplando a fosforilação oxidativa e impedindo a malato desidrogenase. Em sua ação bactericida, aumenta a permeabilidade da membrana celular sobre os íons de potássio, e executa ação inibitória direta na síntese do DNA e RNA microbiano (Cosmetic Ingredient Review, apud, Dréno B., et al, 2019, tradução nossa).

No Brasil, os conservantes permitidos para uso nos produtos cosméticos são regulamentados pela RDC 29/2012 e citados em uma lista no Anexo II, e de acordo com este, o Fenoxietanol é autorizado em formulações cosméticas como conservante obedecendo a concentração máxima de 1% (BRASIL, 2012).

Além disso, a segurança do fenoxietanol como conservante foi avaliada em nível Europeu pelo Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) em 2016. Diante de avaliações, o Comitê concluiu que o Fenoxietanol é seguro para os consumidores, inclusive, crianças, se usado em sua concentração máxima permitida (SCCS, apud Dreno B., et al 2019, tradução nossa)

Ainda que os resultados de contagem de bactérias e fungos estejam dentro dos limites aceitáveis, existe a necessidade de submeter o produto ao teste de desafio do sistema conservante (*Challenge Test*), onde o produto é contaminando propositalmente e realiza-se a avaliação em intervalos de tempo, com o intuito de verificar e comprovar a eficácia do sistema conservante. É necessário realizar esse teste em duas fases, primeiro após a definição da fórmula do produto e segundo, quando terminar o estudo de estabilidade (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A menopausa e o envelhecimento são preocupações que afligem a maioria das mulheres, trazendo a necessidade da indústria cosmética em produzir e inovar os produtos que são capazes de auxiliar e promover melhoria contras as alterações visíveis na pele durante esse período.

Nas condições experimentais do presente trabalho, foi possível concluir que as formulações executadas possuem tendência à estabilidade, pois apresentaram bom comportamento organoléptico, além de estarem em conformidade com a análise microbiológica e serem compatíveis com o pH cutâneo, porém a formulação B apresentou melhor desempenho comportamental da viscosidade.

Embora tenha ocorrido um comportamento anômalo da viscosidade, observou-se que possivelmente a adição de um neutralizante é capaz de estabilizar o polímero compactuando com uma viscosidade de menor grau de oscilação.

As formulações propostas são constituídas por ativos inovadores que possuem eficácia significativa e comprovada através de artigos e arquivos técnicos, sob as alterações causadas na pele que são presentes nessa fase da vida, capazes de melhorar a aparência, preenchendo e suavizando as rugas, melhorando o aspecto de “pele seca” e proporcionando um efeito “tensor” imediato que é de grande estima da população feminina.

Um melhor comportamento de viscosidade fica como proposta para um trabalho futuro, com melhores ajustes nos insumos que compõem a base, além de estudos clínicos que comprovem a eficácia dessa formulação, para que seja considerada clinicamente eficaz para essa finalidade de uso proposta.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília, ministério da saúde, 2004, v.1. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/106351/107910/Guia+de+Estabilidade+de+Produtos+Cosm%C3%A9ticos/49cdf34c-b697-4af3-8647-dcb600f753e2>> Acesso em: 10 de abr. de 2020.

ARQUIVO TÉCNICO, Nutrifarm. Oligo HA – Preenchimento sem agulha, (201-). Disponível em <<https://www.nutrifarm.com.br/Arquivos/Insumo/f89a3304-fa70-4c3e-84d4-3fb8c9903cb4.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2020.

AZULAY, Rubem David. **Dermatologia**. 6ª Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2015.

B. Dréno et al. **Safety review of phenoxyethanol when used as a preservative in cosmetics**. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. v. 33 p.5-14, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jdv.15944>> Acesso em: 01 nov. 2020.

BRASIL. **Resolução RDC Nº 29, de 1º de junho de 2012**. Aprova "Lista de Substâncias de Ação Conservante permitidas para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes" e dá outras providências. Órgão emissor: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0029_01_06_2012.html> Acesso em: 02 de nov. de 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de atenção à mulher no climatério/menopausa**. Brasília, 1ª Ed. 2008.

CAVALCANTI, A.S.S et al. **uso do chá verde, *Camellia sinensis* L. (Theaceae) em produtos tópicos - uma revisão**. Natureza online, p. 76-94, 2007. Disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br/natureza/conteudo/pdf/04_CavalcantiASSetal_7684.pdf>. Acesso em: 03 out. 2020.

CAPATTO, J. B. S. L. **Dimetilaminoetanol - DMAE: Uma revisão bibliográfica**. Revista Infarma, v.20, n. 5/6, 2008. Disponível em: <<http://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=204&path%5B%5D=192>> Acesso em: 02 de nov. 2020.

CHIQUET-EHRISMANN, R. e CHIQUET, M., J. PATHOL., **Tenascins: regulation and putative functions during pathological stress**. 2003. v. 200, ed. 4, p. 488-499. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12845616/>>. Acesso em: 03 out. 2020.

COSTA, Adilson. **Tratado Internacional de Cosmecêuticos**. 1ª Ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2012.

ENGERS, Vanessa Kruger; BEHLING, Camile Saul; FRIZZO, Matias Nunes. **A influência do estresse oxidativo no processo de envelhecimento celular**. Revista Contexto & Saúde. v. 10, n.20., p. 93-102. jan/jun 2011. Disponível em: <<https://www.revistas.unijui.edu.br/index.php/contextoesaude/article/view/1507>>. Acesso em: 06 abr. 2020.

FERREIRA, L.A; **O uso do ácido lactobiônico na pele fotoenvelhecida**. Brazilian Journal of Natural Sciencies, v.2, n.2, p. 73-79, mai. 2019. Disponível em: <<http://www.bjns.com.br/index.php/BJNS/issue/view/6/Braz.%20J.%20Nat.%20Sci>>. Acesso em: 06. Abr. 2020.

HALL, J.E; GUYTON, A.C. **Guyton & Hall: Tratado de fisiologia médica**. 12ª Ed., Rio de Janeiro. Elsevier, 2011.

HIRATA, Lilian Lúcio; SATO, Mayumi Eliza Otsuka; SANTOS, Cid Ambiré de Moraes. **Radicais livres e o envelhecimento cutâneo**. Acta Farmacêutica Bonaerense, v. 23, n.3, p. 418-24, 2004. Disponível em: <<https://fisiosale.com.br/assets/2ciclos-da-pele-0309.pdf>> Acesso em: 02 abr. 2020.

HOLTZ, R. **Recuperação da Eficácia Antienvhecimento**. Revista Cosmetics & Toiletries Brasil, v.31, n.4, p. 18-20, Jul/Ago 2019. Disponível em: <<https://www.cosmeticsonline.com.br/artigo/189>> Acesso em: 03 abr. 2020.

INFORME CIENTÍFICO, Galena. Collys, (201-). Disponível em <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/70107/000864916.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 11 abr. 2020.

JUNQUEIRA, L.C; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª Ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2004.

MONTANARI, T. **Histologia: Texto, atlas e roteiro de aulas práticas**. 3ª Ed., Porto Alegre, UFRGS, 2016. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/livrodehisto/>> Acesso em: 06 abr. 2020.

OLIVEIRA, Ângela Zélia Moreira. **Desenvolvimento de formulações cosméticas com ácido hialurônico**. 2009, 100f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Farmacêutica) – Faculdade de Farmácia Universidade do Porto, Porto, 2009.

NEVES, M.A; SCHUTZ, F.E. **Revisão bibliográfica sobre a eficácia anti-aging do Chá Verde**. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Cosmetologia e Estética) Universidade do Sul de Santa Catarina, Santa Catarina, 2017.

PAPAKONSTANTINO, Eleni; ROTH, Michael; KARAKIULAKIS, George. **Hyaluronic Acid: A key molecule in skin aging**. *Dermatoendocrinol.* v. 4, n.3, p. 253-258, Jul. 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3583886/pdf/de-4-253.pdf>>. Acesso em: 21 de jun. de 2020.

PORTILHO, L.; PACHECO, H. **Niacinamida e Dermatologia**. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*, v.13, n.3, p. 123-129. Jun/Ago 2016.

SILVA, J.N et al. **Desenvolvimento de um creme dermatológico vegetal rejuvenescedor facial contendo Extrato de *Hibiscus sabdariffa***, v.25, n.2, p. 11-18, Dez 2018 - Fev 2019.

SEIXAS, Vitor Cellia. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade e eficácia de formulações cosméticas contendo fosfato de cério com propriedades fotoprotetoras**. 2014. 155 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

SOLÍS, J.N et al. **A Double-Blind, Randomized Clinical Trial of Niacinamide 4% versus Hydroquinone 4% in the Treatment of Melasma**, *Dermatology Research and Practice*, vol. 2011, Jul. 2011. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/dr/2011/379173/>>. Acesso em: 28 out. 2020.

TSOLIS, P; CAMACHO, A. **Avaliando problemas de estabilidade**. *Revista Cosmetics & Toiletries Brasil*, v. 30, n. 5, p. 40-42, 2018.

TECHNICAL FILE, Southern Cross Botanicals. *Skinectura- Flower nectar for younger skin structure*, (201-). Disponível em: <http://www.noregal.mx/Flashes/f_572623455.pdf> . Acesso em: 28 out. 2020.

TESTON, Ana Paula; NARDINO, Deise; PIVATO, Leandro. **Envelhecimento Cutâneo: Teoria dos radicais livres e tratamento visando a prevenção e o rejuvenescimento**. *Revista Uningá Review*, v.1, n.1, Jan. 2010. Disponível em: <<http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/451>>. Acesso em: 06 abr. 2020.