



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ISABELLE MOURA FITTIPALDI DE SOUZA DANTAS

**ÓLEO DA BORRA DO CAFÉ: DETERMINAÇÃO DO EHL, AÇÃO
PROMOTORA DE ABSORÇÃO DE FÁRMACOS E EFEITO
HIDRATANTE NA PELE HUMANA**

Recife

2016

ISABELLE MOURA FITTIPALDI DE SOUZA DANTAS

**ÓLEO DA BORRA DO CAFÉ: DETERMINAÇÃO DO EHL, AÇÃO
PROMOTORA DE ABSORÇÃO DE FÁRMACOS E EFEITO
HIDRATANTE NA PELE HUMANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Produção e Controle de Medicamentos

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Leila Bastos Leal

Co-orientador: Prof. Dr. Davi Pereira de Santana

**RECIFE
2016**

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

D192o Dantas, Isabelle Moura Fittipaldi de Souza.
Óleo da borra do café: Determinação do EHL, ação promotora de absorção de fármacos e efeito hidratante na pele humana / Isabelle Moura Fittipaldi de Souza Dantas. – 2016.
111 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Leila Bastos Leal.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2016.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Café. 2. Hidratação. 3. Liberação. 4. Permeação. 5. Pele. I. Leal, Leila Bastos (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2016-127)

ISABELLE MOURA FITTIPALDI DE SOUZA DANTAS

**ÓLEO DA BORRA DO CAFÉ: DETERMINAÇÃO DO EHL, AÇÃO
PROMOTORA DE ABSORÇÃO DE FÁRMACOS E EFEITO
HIDRATANTE NA PELE HUMANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 11 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Leila Bastos Leal
Universidade Federal de Pernambuco
Orientadora - Presidente

Prof. Dr. Davi Pereira de Santana
Universidade Federal de Pernambuco
Co-orientador - Examinador Interno

Prof.^a Dr.^a Kátia Aparecida da Silva Aquino
Universidade Federal de Pernambuco
Examinador Externo

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Reitor

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

Vice-Reitora

Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

Diretor de Ciências da Saúde - CCS

Nicodemos Teles de Pontes Filho

Vice-Diretora do Centro de Ciências da Saúde - CCS

Vânia Pinheiro Ramos

Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Antonio Rodolfo de Faria

Vice-Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Dalci José Brondanni

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Almir Gonçalves Wanderley

Vice-Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Rafael Matos Ximenes

À minha mãe Edine, pela dedicação e amor incondicional, e ao meu grande amor Eduardo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele eu não teria traçado o meu caminho, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada.

À minha mãe Edine, pois confiou em mim e sempre me apoia em TUDO. Sei que você não mediria esforços para que este sonho se realizasse. Sem sua compreensão, ajuda e confiança, nada disso seria possível hoje. A você, além da dedicatória desta conquista, dedico a minha vida. Te amo!

Ao meu noivo Eduardo, por toda paciência, compreensão, carinho e amor e por me ajudar muitas vezes a achar soluções quando elas pareciam não existir. Você foi a pessoa que compartilhou comigo os momentos de tristeza e alegria. Te amo!

À minha Orientadora, Prof.^a Dr.^a Leila Bastos Leal, pela confiança, orientação, ensinamentos, sempre dedicando parte de seu tempo com paciência, compreensão e incentivo que me fizeram crescer.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Davi Pereira de Santana, pelos ensinamentos e apoio.

Aos meus amigos Karol e Gustavo, que estão ao meu lado desde a graduação e que com certeza fazem parte desta conquista, sempre ajudando e me incentivando.

À Anellyse, Maíra, Karine, Noely, Irla, Ana Rosa, Juliana, Wellington que estavam sempre presentes e ajudando de todas as formas. Muito obrigada!

À Giovana por toda a ajuda que foi de suma importância.

À Karine e Ellison por toda a ajuda e ensinamentos no processamento dos dados.

Ao professor Danilo Bedor pelo auxílio nos ensaios analíticos.

A todos os integrantes do NUDFAC, por todo apoio e ajuda.

À professora Kátia Aquino do Departamento de Engenharia Nuclear pela parceria e doação do óleo extraído da borra do café que foi utilizado no estudo, além de toda ajuda que foi fundamental para a caracterização do óleo, em conjunto com sua aluna Lindomar Silva, por disponibilizar seu tempo para ajudar no que foi necessário.

À professora Míriam Camargo e Camila do LAPTOX – UFPE, pela doação das mudas de pele de cobra para realização do estudo de permeação cutânea.

Ao CETENE pela realização da Análise Térmica, em particular a Adriana pela atenção dada.

À Central Analítica do Departamento de Química Fundamental – DqF-UFPE, pela realização dos ensaios de caracterização.

A todas as voluntárias que participaram com dedicação e paciência do estudo de hidratação.

A todos os professores e funcionários que fazendo parte da pós-graduação sempre solícitos e gentis.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa.

A todos que contribuíram de uma forma ou de outra para realização deste trabalho, deixo meus sinceros agradecimentos.

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos que nos levam sempre aos mesmos lugares. É tempo da travessia e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre à margem de nós mesmos”.

Fernando Pessoa

RESUMO

O óleo obtido a partir da borra do café é constituído de ácidos graxos saturados e insaturados. Entre eles, o ácido oleico, com um baixo índice de oxidação, o que lhe confere resistência à degradação. Essas características tornam este óleo um bom candidato à utilização em preparações dermocosméticas. Portanto, vislumbrando a aplicabilidade na área cosmética e dermofarmacêutica, sinalizando o aproveitamento de recursos naturais com desenvolvimento sustentável e contribuição social, este trabalho teve como objetivos a caracterização do óleo, desenvolvimento de emulsões, avaliação do potencial de permeação cutânea e realização de estudo clínico para avaliação dos efeitos hidratantes do óleo da borra do café na pele humana. A caracterização do óleo foi realizada a partir do método clássico, espectro integrado de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (RMN ^1H), análise térmica (TGA/DSC) e Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectroscopia de Massas (CG/MS). As formulações desenvolvidas foram avaliadas quanto ao valor de pH, viscosidade, reologia, espalhabilidade, teste de centrifugação e aferição do tamanho de gotículas. O EHL crítico foi determinado pelo método indireto, relacionando componentes físico-químicos mensuráveis com o EHL dos compostos. A avaliação do potencial do óleo da borra do café, como promotor de permeação, foi feita através da comparação entre a quantidade de lapachol e metronidazol (marcadores lipofílico e hidrofílico) liberada e permeada das formulações com e sem óleo da borra do café. No estudo clínico, foi avaliado o poder hidratante de preparação emulsionada contendo óleo da borra do café, comparando-a com a mesma preparação com óleo de amêndoas doces (OAD), em 20 voluntárias sadias. As análises realizadas a partir do espectro de RMN ^1H , método clássico e análise térmica mostraram que o óleo em questão apresentou-se dentro das especificações e embora seja proveniente de um material de descarte, o mesmo apresenta características que o classifica como um óleo de qualidade e de direta aplicação na indústria. O CG/MS indicou maior porcentagem de ácido linoleico, seguido do palmítico, oleico, esteárico e araquídico. O EHL crítico encontrado do óleo da borra do café foi de 11,79. A formulação 3 apresentou-se mais estável diante dos parâmetros analisados, com comportamento pseudoplástico. Nos estudos de liberação e permeação *in vitro* utilizando membrana de acetato de celulose e pele de cobra, o óleo da borra do café contribuiu significativamente para o aumento na

quantidade de lapachol e metronidazol permeado. Foi possível observar que as formulações com óleo da borra do café e OAD apresentaram um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo após dose única e repetida durante 20 dias, quando comparadas com os valores basais.

Palavras-chave: Café. Hidratação. Liberação. Permeação. Pele.

ABSTRACT

The oil obtained from the coffee grounds consists of saturated and unsaturated fatty acids. Among them, oleic acid, with low oxidation index, which gives it resistance to degradation. These characteristics make this oil a good candidate for use in dermocosmetic preparations. Therefore, intending the applicability in cosmetic and dermopharmaceutical area, signaling the use of natural resources with sustainable development and social contribution, this study aimed the characterization of the oil, development emulsions evaluation of the skin permeation potential and conducting clinical study to evaluate the moisturizing effects of the coffee grounds oil on human skin. The oil characterization was accomplished by a classic method, integrated spectrum Proton Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR), thermal analysis (TGA/DSC) and Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry (GC / MS). The developed formulations were evaluated for pH, viscosity, rheology, spreadability, centrifugation test and droplet size measurement. The critical HLB was determined by the indirect method, linking measurable physical and chemical components with HLB of the compounds. The potential evaluation of coffee grounds oil, as permeation promoter, was made by comparing the amount of lapachol and metronidazole (lipophilic and hydrophilic markers) released and permeated the formulations with and without the coffee grounds oil. In the clinical study, the moisturizing power of emulsified preparation containing coffee grounds of oil, was evaluated by comparing with the same preparation with sweet almond oil (OAD) in 20 healthy volunteers. The analysis from the ^1H NMR spectrum, classic method and thermal analysis, showed that the oil in question was within the specifications and although from a disposal material, it has characteristics that classifies as a quality oil and direct application in industry. The GC/MS indicated higher percentage of linoleic acid, followed by palmitic, oleic, stearic and arachidic. The critical HLB found the coffee grounds oil was 11.79. The formulation 3 had become more stable according to the parameters analysis, with pseudoplastic behavior. In studies *in vitro* permeation and release the coffee grounds oil contributed significantly to the increase in the amount of permeated metronidazole and lapachol. It was observed that the formulations with the coffee grounds and OAD oil showed a significant increase in the water content of the stratum corneum after a single dose and repeated for 20 days, when compared with baseline values.

Keywords: Coffee. Hydration. Release. Permeation. Skin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação da estrutura da pele.....	26
Figura 2 - Fotografia da muda da pele de cobra <i>Boa constrictor</i>	32
Figura 3 - Grãos de café do tipo arábico.....	38
Figura 4 - Fotografia do Microette®.....	54
Figura 5 - Curva de TGA e DTG do óleo da borra do café em atmosfera de nitrogênio.....	61
Figura 6 - Curva DSC do óleo da borra do café em atmosfera dinâmica de nitrogênio.....	63
Figura 7 - Fotografia correspondente a emulsão 6.....	66
Figura 8 - Fotografia correspondente a emulsão 7.....	66
Figura 9 - Gráfico da espalhabilidade da formulação 1 em diferentes tempos e condições de armazenamento.....	69
Figura 10 - Gráfico da espalhabilidade da formulação 2 em diferentes tempos e condições de armazenamento.....	69
Figura 11 - Gráfico da espalhabilidade da formulação 3 em diferentes tempos e condições de armazenamento.....	70
Figura 12 - Microfotografia da formulação 1.....	71
Figura 13 - Microfotografia da formulação 2.....	71
Figura 14 - Microfotografia da formulação 3.....	72
Figura 15 - Reogramas da formulação 1 nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.....	73
Figura 16 - Reogramas da formulação 2 nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.....	74
Figura 17 - Reogramas da formulação 3 nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.....	75
Figura 18 - Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 2 horas de uma única aplicação das formulações estudadas.....	77
Figura 19 - Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 20 dias de aplicação diária das formulações estudadas.....	78

Figura 20 - Perfil de liberação <i>in vitro</i> das formulações de lapachol estudadas usando membrana artificial.....	81
Figura 21 - Perfil de liberação <i>in vitro</i> das formulações de metronidazol estudadas usando membrana artificial.....	81
Figura 22 - Perfil de permeação cutânea <i>in vitro</i> das formulações de lapachol estudadas usando biomembrana.....	84
Figura 23 - Perfil de permeação cutânea <i>in vitro</i> das formulações de metronidazol estudadas usando biomembrana.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fórmulas utilizadas para obtenção de parâmetros físico-químicos através da utilização de espectros integrados de RMN ¹ H.....	43
Tabela 2 - EHL das emulsões preparadas.....	46
Tabela 3 - Formulações de emulsões com óleo da borra do café.....	47
Tabela 4 - Formulações utilizadas com lapachol.....	52
Tabela 5 - Formulações utilizadas com metronidazol.....	53
Tabela 6 - Caracterização físico-química do óleo da borra do café.....	57
Tabela 7 - Etapas de decomposição do óleo da borra do café.....	62
Tabela 8 - Ácidos graxos majoritários do óleo da borra do café.....	64
Tabela 9 - Conteúdo de ácidos graxos insaturados encontrados no óleo da borra do café por RMN ¹ H e CG/MS.....	65
Tabela 10 - Resultados dos ensaios de EHL.....	65
Tabela 11 - Valores médios de pH das emulsões armazenadas sob diferentes condições e períodos nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.....	67
Tabela 12 - Valores médios da viscosidade aparente (Pa/s) das emulsões nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.....	72
Tabela 13 - Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 2 horas de uma única aplicação das formulações estudadas.....	77
Tabela 14 - Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 20 dias de aplicação diária das formulações estudadas.....	78
Tabela 15 - Valores médios de quantidade liberada, taxa de liberação e coeficiente de determinação para diferentes formulações contendo lapachol usando membrana artificial	82
Tabela 16 - Valores médios de quantidade liberada, fluxo e coeficiente de permeabilidade para as diferentes formulações contendo lapachol após 24 horas usando biomembrana.....	85
Tabela 17 - Valores médios de quantidade liberada, fluxo e coeficiente de permeabilidade para as diferentes formulações contendo metronidazol após 24 horas usando biomembrana.....	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIC - Associação Brasileira das Indústrias de Café

ANOVA - Análise de variância

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

A/O - Água em óleo

A/O/A - Água em óleo em água

BHT - Butilhidroxitolueno

CG/MS - Cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas

CLAE-UV - Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta

D.P - Desvio padrão

DSC - Calorimetria exploratória diferencial

DTG - Termogravimetria derivada

EC - Estrato córneo

EHL - Equilíbrio hidrófilo-lipófilo

F. BRAS - Farmacopeia Brasileira

KOH - Hidróxido de potássio

NaOH - Hidróxido de sódio

O/A - Óleo em água

O/A/O - Óleo em água em óleo

RE - Resolução

RMN ¹H - Ressonância Magnética Nuclear de Prótons

T.A - Temperatura ambiente

TEWL - Perda de água transepidermal

TGA - Termogravimetria

UV - Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

cm - centímetro

cm² - centímetro quadrado

°C - grau Celsius

g - grama

h - hora

kg - quilograma

kg/m³ - quilograma por metro cúbico

m - metro

meq - miliequivalente

mg - miligrama

min - minuto

mL - mililitro

mm - milímetro

m/s - metro por segundo

m/s² - metro por segundo ao quadrado

N/m² - Newton por metro quadrado

nm - nanômetro

Pa.s - Pascal segundo

% - porcentagem

pH - potencial hidrogeniônico

p/v – peso/volume

rpm - rotações por minuto

T - temperatura

t - tonelada

µg - micrograma

µL - microlitro

µm - micrômetro

v/v - volume/volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos Específicos	24
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	26
3.1 Pele.....	26
3.1.1 Hidratação cutânea.....	28
3.1.2 Penetração cutânea de fármacos.....	30
3.2 Emulsões	33
3.2.1 Sistema EHL.....	34
3.2.2 Estabilidade das emulsões.....	35
3.2.3 Reologia das emulsões.....	35
3.3 Café.....	37
3.4 Lapachol.....	40
3.5 Metronidazol.....	41
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
4.1 Obtenção do óleo da borra do café.....	43
4.2 Caracterização físico-química do óleo da borra do café.....	43
4.2.1 Análise térmica.....	44
4.2.1.1 Termogravimetria (TGA).....	44
4.2.1.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	44
4.2.2 Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectroscopia de Massas (CG/MS).....	45
4.3 Determinação do EHL do óleo.....	45
4.4 Desenvolvimento das formulações para avaliação de seus efeitos hidratantes...46	
4.4.1 Estudo de estabilidade acelerada.....	47
4.4.2 Determinação da espalhabilidade.....	48
4.4.3 Análise do tamanho das gotículas das emulsões.....	49
4.4.4 Estudo de estabilidade física por determinação do comportamento reológico.....	49
4.5 Avaliação do efeito hidratante das formulações na pele humana.....	50
4.5.1 Avaliação dos efeitos das formulações após uma única aplicação.....	51
4.5.2 Avaliação dos efeitos das formulações a longo prazo.....	51
4.6 Avaliação da liberação e permeação <i>in vitro</i> do óleo da borra do café como promotor da permeação cutânea do lapachol e metronidazol.....	52
4.6.1 Preparação das formulações.....	52
4.6.2 Seleção do meio receptor.....	53
4.6.3 Estudo de liberação e permeação <i>in vitro</i>	53
4.6.4 Quantificação do lapachol e metronidazol no fluido receptor.....	54
4.6.5 Cálculo do fluxo (J) e do coeficiente de permeabilidade (Kp).....	55
4.6.6 Análise estatística.....	55

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 Caracterização físico-química do óleo da borra do café.....	57
5.1.1 Análise térmica.....	60
5.1.1.1 Termogravimetria (TGA).....	60
5.1.1.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	62
5.1.2 Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectroscopia de Massas (CG/MS)....	63
5.2 Determinação do EHL.....	65
5.3 Estudo de estabilidade acelerada.....	67
5.4 Determinação da espalhabilidade.....	68
5.5 Análise do tamanho das gotículas das emulsões.....	70
5.6 Estudo de estabilidade física por determinação do comportamento reológico.....	72
5.7 Avaliação do efeito hidratante das formulações na pele humana.....	76
5.8 Avaliação da liberação e permeação <i>in vitro</i> do óleo da borra do café como promotor da permeação cutânea do lapachol e metronidazol.....	79
5.8.1 Seleção do meio receptor.....	79
5.8.2 Estudo de liberação <i>in vitro</i>	80
5.8.3 Estudo de permeação <i>in vitro</i>	82
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	87
REFERÊNCIAS.....	91
APÊNDICES.....	107
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	108
APÊNDICE B - Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (RMN ¹ H)	111

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A pele, órgão de maior dimensão do corpo humano, reveste praticamente toda a superfície corporal constituindo uma barreira eficaz de defesa e regulação, assegurando as relações entre o organismo e o ambiente. É a pele que determina o aspecto ou a aparência, imprime caráter sexual e racial e protege o corpo pelo fato de se tratar de uma barreira dotada de resistência, semipermeabilidade e plasticidade (OLIVEIRA, 2009).

A hidratação desta barreira (pele) é determinante para a absorção percutânea. Os níveis de umidade do estrato córneo (EC), a perda de água transepidermal (TEWL), a elasticidade da pele e a renovação celular do EC são provavelmente os quatro principais meios de condicionamento da mesma (ROBERTS et al., 2008).

Os produtos de ação hidratante aplicados sobre a pele, em geral, procuram alterar o teor de água da camada córnea a depender da água de ligação, das propriedades de barreira e do gradiente de água através do EC (ROBERTS et al., 2008).

Estes produtos são, normalmente, veiculados em emulsões (cremes/loções), que são sistemas termodinamicamente instáveis, nos quais há mistura de dois líquidos imiscíveis, dispersos entre si como gotículas e/ou cristais líquidos. A formulação e o controle das variáveis do processo de fabricação nos permitem obter emulsões com características adequadas à finalidade específica desejada (ZANIN et al., 2002).

Neste sentido, o método do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) é bastante útil para definir a proporção e as características dos agentes emulsificantes necessários à produção de emulsões fisicamente mais estáveis (ANSEL et al., 2009; AULTON, 2005; LACHMAN et al., 2001; ZANIN et al., 2002).

Dentre os ativos com ação hidratante, os óleos vegetais são componentes usuais de emulsões cosméticas, devido a algumas de suas propriedades, entre elas o baixo peso molecular e viscosidade, boa penetração cutânea, melhor compatibilidade com a pele, além de serem fonte de ácidos graxos essenciais e vitaminas (CORTE, 2006; MORAIS et al., 2005).

Essas características tornam os óleos vegetais bons candidatos à utilização em preparações cosméticas, pois além de agirem como possíveis promotores de permeação de fármacos, em virtude da hidratação promovida, podem permear ou interagir com os componentes do estrato córneo, reduzindo a resistência da pele à

difusão do fármaco e incrementando a atividade termodinâmica deste (MARTINS; VEIGA, 2002; STORPIRTIS et al., 2009; SOUSA, 2013).

O Brasil é o maior produtor mundial de frutos de café da espécie *Coffea arabica* (SILVA, 2005). O café é rico em óleos, e a variedade arábica contém de 12 a 18%. Grande parte desses óleos é constituída por ácido palmítico (34,5%) e linoleico (40,3%) (TURATTI, 2001; VIDAL, 2001). Porém, há um mínimo decréscimo do seu teor do estado verde e torrado para as borras, o que sugere que a torração tenha pequena influência na estabilidade do referido ácido graxo (FONSECA; GUTIERREZ, 1971).

A partir da borra do café, que é obtida através da produção de café solúvel pelas indústrias, pela produção do café coado convencional ou pela produção do café expresso em cafeterias ou residências, é extraído um óleo com um alto teor dos ácidos graxos acima citados. Na indústria de café solúvel, para cada tonelada de café verde processada, são gerados 650 Kg de borra, e para 1 Kg de café solúvel produzido, são gerados 2 Kg de borra úmida (VEGRO; CARVALHO, 2006).

A borra do café é classificada como um resíduo classe II A - não inerte, o qual apresenta solubilidade em água, biodegradabilidade e combustibilidade.

Sendo assim, é de grande importância investigar as características do óleo da borra do café, já que ácidos graxos saturados e insaturados estão presentes na constituição deste óleo conferindo-lhe propriedades emolientes quando incorporado em dermoformulações.

Dito isto, este trabalho se propôs a caracterizar o óleo, desenvolver emulsões a partir da determinação do seu equilíbrio hidrófilo-lipófilo, avaliar o potencial de promoção da permeação cutânea de fármaco modelo hidrofílico e lipofílico e realizar estudo clínico de avaliação dos efeitos hidratantes do óleo da borra do café.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e avaliar emulsões contendo óleo obtido a partir da borra do café quanto ao seu potencial hidratante e capacidade deste óleo de atuar como promotor de permeação.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar as características físico-químicas do óleo da borra do café;
- Determinar o equilíbrio hidrófilo-lipófilo crítico (EHL);
- Desenvolvimento e caracterização das emulsões através de parâmetros de viscosidade, reologia, espalhabilidade, microscopia óptica, resistência à centrifugação, determinação de pH;
- Estudo clínico para avaliação dos efeitos hidratantes do óleo da borra do café na pele humana;
- Avaliar o óleo da borra do café como promotor de permeação cutânea de fármacos.

REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

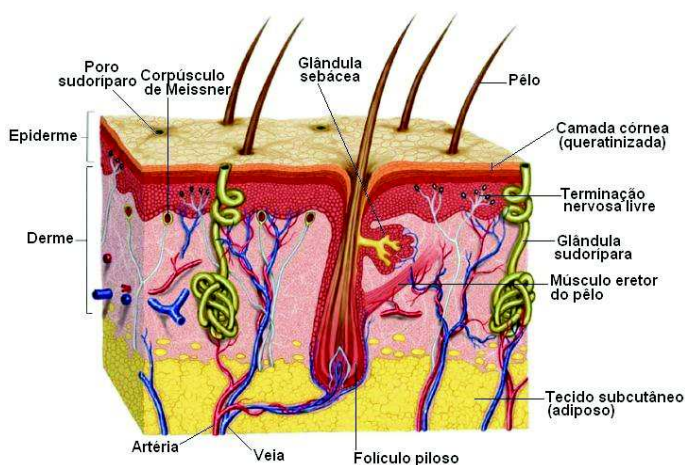
3.1 Pele

A pele é o órgão mais extenso do corpo humano, com uma área de superfície no indivíduo adulto de aproximadamente 2 m², que corresponde a aproximadamente 16% da massa corporal (ANTONIO, 2007; KEDE; SABATOVICH, 2003). É uma barreira protetora, assegurando as relações entre o meio interior e exterior, imprescindível à existência de vida (CHIEN, 2005).

Sendo responsável pela defesa de nosso organismo contra agentes externos como bactérias, fungos, poluição e raios solares. É também responsável pelo equilíbrio da nossa temperatura, com a produção de suor, e de manter o equilíbrio hídrico, de eletrólitos e nutrientes (TOSATO, 2010).

Microscopicamente a pele é um órgão composto de várias camadas, porém é geralmente descrita por três camadas onde, em um corte perpendicular visto de fora para dentro, temos: epiderme, derme e hipoderme (Figura 1). A epiderme, camada mais externa formada por tecido epitelial é um tecido escamoso estratificado revestido por uma camada de células queratinizadas, que chamamos estrato córneo. A derme está localizada logo abaixo da epiderme e é um tecido de preenchimento rico em vasos sanguíneos, terminações nervosas, glândulas sudoríparas e sebáceas e folículos pilosos. E, como última camada a hipoderme, composta basicamente por células adiposas ou adipócitos (HARDING, 2000; TOSATO, 2010).

Figura 1 - Representação da estrutura da pele (disponível em: <http://www.afh.bio.br/sentidos/sentidos10.asp> - acessado em 17/12/2015).



A epiderme sofre um processo de diferenciação dando origem a uma camada fina e inerte responsável pela retenção de água no organismo, o estrato córneo. O estrato córneo (EC) é diferente de qualquer outro tecido, ele é formado por células anucleadas e não viáveis. Estruturalmente tem sido comparado a uma parede de tijolos onde os corneócitos representam os tijolos e a matriz intercelular o cimento (HARDING, 2000; BOOCK, 2007). Na epiderme encontram-se ainda os melanócitos, as células de Langerhans (defesa imunológica) e as células de Merckel (com terminações nervosas e sensoriais) (LIRA, 2007; MELO, 2012).

O EC é uma barreira dinâmica, ou seja, está constantemente sendo formado pela epiderme por diferenciação de queratinócitos em corneócitos, processo chamado de queratinização. Em média, uma camada de corneócitos da superfície mais externa da pele é perdida por dia (PRASCH et al., 2000; MILAN, 2006). O tempo de renovação epidérmica, desde a divisão celular na camada basal até a passagem dos corneócitos pelo estrato córneo pode ser estimado em 59 a 75 dias (HARRIS, 2009).

A queratinização da epiderme ocorre a partir de dois fenômenos, a migração vertical das células surgidas da divisão das células basais e a diferenciação destas células para chegar à formação das células córneas (PEYREFITTE et al., 1998; MILAN, 2006; MONTEIRO, 2010). Durante este processo, lipídios do EC, assim como o Fator de Hidratação Natural (NMF), são sintetizados.

O conteúdo aquoso presente no estrato córneo está diretamente ligado à hidratação cutânea e isso pode ser associado à presença de substâncias higroscópicas na matriz intercelular compondo o Fator de Hidratação Natural (NMF) (BOOK, 2007). Na pele saudável, os corneócitos possuem altas concentrações de NMF, cerca de 10% de seu peso seco (TEIXEIRA, 2013).

O NMF está localizado intracelularmente sendo formado por moléculas de baixo peso molecular, higroscópicas e que se ligam à água, prevenindo sua evaporação. Essas moléculas são principalmente aminoácidos, os ácidos pirrolidônico-carboxílico (PCA-Na), lactato de sódio, ácido láctico e uréia, junto com os lipídeos liberados pelos grânulos lamelares, localizados extracelularmente, garantindo ao estrato córneo a função protetora de evitar a perda de água transepidérmica (HARRIS, 2003; BAUMANN, 2004; HARRIS, 2005; MACHADO, 2010).

Entre os corneócitos estão presentes os lipídios intercelulares, que são constituídos principalmente por ceramidas, colesterol e ácidos graxos livres, formando as estruturas lipídicas lamelares intercelulares (PRASCH et al., 2000; MILAN, 2006).

Juntamente com os corneócitos, os lipídios intracelulares formam o cimento intercelular, o qual é responsável pela maior parte da função de barreira de permeabilidade e pela função de coesão intercelular da pele. Devido ao seu alto grau de compactação e pequeno espaço intercelular, o estrato córneo é seletivamente impermeável, tanto para os líquidos que entram como para os que saem do corpo (MILAN, 2006; MONTEIRO, 2010).

Para a boa formação e funcionamento do estrato córneo, são necessários quatro constituintes: dupla camada lipídica, fator de hidratação natural, processo de descamação e os corneócitos. Quando estão funcionando normalmente, o estrato córneo não é apenas uma barreira contra a umidade relativa, mas também uma barreira efetiva contra microrganismos e substâncias químicas, além de impedir que a pele absorva agentes (BAUMANN, 2004; DRAELOS, 2005; MACHADO, 2010).

Substâncias químicas, com exceção da água, só conseguem permear a pele através de camadas lipídicas intercelulares, enquanto a água ao passar pelos corneócitos, será retirada pelas fibras de queratina, altamente hidrofílicas (HARRIS, 2005). A combinação entre as células córneas e as camadas lipídicas lamelares previne a perda de água do corpo e o protege contra penetração de substâncias exógenas (PRASCH et al., 2000; MILAN, 2006).

A hidratação da pele pode afetar a função de barreira e exercer desse modo, um efeito na difusão da água e na penetração de outras substâncias através do estrato córneo. A quantidade de água no estrato córneo é responsável pela flexibilidade, suavidade e plasticidade da pele (CORTE, 2006).

3.1.1 Hidratação cutânea

Hidratação é um termo que engloba um vasto número de significados e interpretações, dependente da forma como nos referimos à pele em termos de aparência macroscópica, textura ou suavidade ao toque. Todavia, o conceito-chave é a presença de água na pele (SALES, 1998; BARATA, 2002).

A quantidade de água presente na pele não é distribuída uniformemente em todas as camadas. A maior parte dela está fixada à derme, e esta juntamente com a água presente na epiderme são em torno de 70% de água total. Já o conteúdo de água no estrato córneo diminui à medida que se aproxima da superfície. Nas camadas mais

profundas contêm cerca 65% de água, enquanto as camadas mais externas apresentam cerca de 10 - 15% (GIRARD et al., 2000; MILAN, 2006).

A retenção de água que ocorre no estrato córneo é essencial para manter sua flexibilidade e promover a hidratação necessária às enzimas envolvidas em vários aspectos de função e maturação do estrato córneo (HARDING et al., 2000). Além de que, quando associada às moléculas solúveis do fator de umectação natural - NMF e às proteínas da epiderme, a água tem função plastificante que é indispensável para manter em ordem as propriedades mecânicas do estrato córneo (MONTEIRO, 2010).

A pele se desidrata e perde sua elasticidade quando o estrato córneo elimina a água com mais rapidez do que a recebe, procedente das camadas mais internas da epiderme (MONTEIRO, 2010).

Os produtos cosméticos hidratantes são compostos por ativos que agem pelos principais mecanismos de hidratação cutânea: oclusão, umectação, hidratação ativa, e indução à formação de aquoporinas (CAUSSIN et al., 2009; RIBEIRO, 2010; BONTÉ, 2011; DAMASCENO, 2014).

Através do mecanismo de oclusão, há a formação de um filme lipofílico que atua como uma barreira evitando e/ou diminuindo a perda de água transepidermal. Alguns exemplos que fazem essa função são os óleos vegetais, minerais e gorduras animais (STAMATAS et al., 2008; RIBEIRO, 2010; DEDEREN et al., 2012; RAWLINGS et al., 2012; DAMASCENO, 2014).

Os que agem por umectação, devido à presença de vários grupamentos hidroxilas livres, são capazes de se ligar e reter água. Hidrolisados proteicos de origem animal ou vegetal, glicóis, glicerina, uréia, lactatos, arginina e polissacarídeos como o ácido hialurônico (BONTÉ, 2011; HARDING et al., 2000; RIBEIRO, 2010; DAMASCENO, 2014).

Na hidratação ativa os ativos cosméticos como o colesterol, ceramidas e ácidos graxos livres, atuam nas lamelas da camada córnea, através da reconstituição da barreira lipídica entre os corneócitos, melhorando as propriedades biomecânicas (RIBEIRO, 2010; MONCRIEFF et al., 2013; WOLF; PARISH, 2013; DAMASCENO, 2014).

O mecanismo de hidratação mais recentemente descoberto e estudado, são as aquoporinas (AQP). São denominadas como canais de água e facilitam o fluxo de água e algumas pequenas moléculas através da membrana celular, como o glicerol e a uréia. A AQP3 é a mais abundante na epiderme dos humanos, localizada nos

queratinócitos, levando à formação de um circuito de água que permite o fluxo aquoso e de glicerol da base da epiderme até o EC (DAMASCENO, 2014).

Em emulsões cosméticas, os óleos vegetais são constituintes da fase oleosa, e o motivo para o uso de ceras e gorduras derivados de animais ou plantas em produtos cosméticos é acreditar que são semelhantes e até mesmo idênticos aos encontrados na pele humana (GONÇALVES, 2000; LIMA, 2010). Estes óleos estão sendo utilizados cada vez mais, como matéria-prima emoliente em emulsões cosméticas (LIMA, 2010).

Quando aplicado sobre a pele, devido a sua tensão superficial e imiscibilidade com a água, o óleo vegetal não forma uma película contínua, distribui-se em gotículas nos espaços interfoliculares e entre os poros sudoríparos. Dessa maneira, não há interferência na transpiração e a pele não se torna seca, pois o óleo presente na camada córnea impede a descamação e conseqüentemente a pele se torna mais macia (MITLAG et al., 1992; LIMA, 2010).

Assim, os produtos hidratantes são amplamente utilizados para suavizar a pele e realçar sua beleza. No entanto, além da avaliação da estabilidade destas formulações, é imprescindível a avaliação de sua eficácia enquanto produto hidratante. Dentre os métodos disponíveis para tanto, as metodologias *in vivo* não invasivas, entre elas o uso do corneômetro e tevâmetro, vem sendo amplamente utilizados na realização dos estudos de eficácia durante o desenvolvimento de uma formulação cosmética, uma vez que possibilitam uma avaliação criteriosa dos efeitos na pele humana, utilizando-se voluntários, nas reais condições de uso de um produto (LEONARDI et al., 2002; CAMARGO JÚNIOR, 2006).

3.1.2 Penetração cutânea de fármacos

A penetração de substância na pele nem sempre é possível, pois as barreiras naturais que existem dificultam a sua penetração, como por exemplo, a oleosidade do estrato córneo, que provem das glândulas sebáceas, sendo assim a principal barreira para a permeação de substâncias ativas na pele (LEONARDI, 2008).

Existem cosméticos que podem conter agentes específicos, denominados promotores de absorção, que ajudam na permeação de substâncias ativas, promovendo o aumento da hidratação do estrato córneo, alterando a sua estrutura e baixando a resistência da pele. Contudo, estes promotores de absorção devem

apresentar-se inócuos, sem interferir com outros componentes e nem modificar as características físico-químicas e sensoriais do produto (LEONARDI, 2008).

Para aumentar a permeação de fármacos através da pele, têm sido utilizados promotores físicos ou químicos de permeação que interagem continuamente com a mesma para promover o fluxo do fármaco. Todavia, a inclusão ou utilização destes nas formulações ainda é limitada e os mecanismos básicos de ação dos mesmos não estão totalmente esclarecidos. Além dos promotores físicos ou químicos, sistemas vesiculares, como lipossomas, etossomas e microemulsões, vêm sendo empregados com tal propósito (CHORILLI et al., 2004; ELSAYED et al., 2006; SINTOV; BOTNER, 2006).

Podemos citar como técnica de promotores físicos a iontoforese, a sonoforese, eletropermeabilidade e magnetização (CHORILLI et al., 2007). Os promotores químicos mais utilizados são: dimetilsulfóxido (DMSO), propilenoglicol, azona, uréia, pirrolidonas, etanol, agentes tensoativos.

Dentre as substâncias que podem alterar a permeabilidade da pele, fazendo com que haja um aumento na difusão de substâncias de difícil penetração através da pele, estão os ácidos graxos como o ácido oleico, linolênico, láurico, cáprico, entre outros (LIMA, 2010).

Os ácidos graxos com cadeias formadas por 10 a 12 átomos são mais efetivos como promotores de permeação. O ácido oleico possui 18 carbonos e uma insaturação, e se mostrou mais efetivo frente ao ácido esteárico com 18 carbonos e saturado. Outros ácidos graxos insaturados de cadeia longa como o ácido miristoléico, palmitoléico, linoleico e linolênico, também possuem propriedades promotoras de permeação (LIMA, 2010).

A avaliação da liberação e permeação cutânea de fármacos, visando estimar a quantidade do mesmo que é absorvido pela pele, é realizado pelo uso de técnica *in vitro*, utilizando células de difusão tipo Franz. Esses dispositivos são constituídos por dois compartimentos, um doador e outro receptor, separados por uma membrana sintética ou natural. O compartimento receptor é preenchido com uma solução que favorece as condições *sink*, ou seja, uma condição de não saturação do sistema dinâmico (5 a 10 vezes abaixo do limite de saturação), o que garante um fluxo contínuo do fármaco (SILVA et al., 2010).

Os estudos *in vitro* de liberação do fármaco da forma farmacêutica, é realizado utilizando membranas sintéticas. Essas membranas possuem estrutura simples e são

isentas de interferentes presentes na pele humana. Assim, a liberação do fármaco irá depender da atividade termodinâmica e da sua solubilidade no veículo. As membranas mais utilizadas são as de acetato de celulose, nitrato de celulose, nylon e polidimetilsiloxane (CARVALHO, 2007; SANTIS, 2008).

Os estudos *in vitro* de penetração e/ou permeação cutânea são realizados com membranas naturais (pele humana ou animal). Podem ser utilizados como modelo natural, pele de rato, camundongo com e sem pelo, macaco rhesus, porco, cobra, entre outros (SANTIS, 2008).

A utilização de pele de cobra vem ganhando espaço como alternativa a pele humana nos estudos de alteração biofísica de formulações ou promotores de penetração cutânea. A muda de pele de cobra (Figura 2) é constituída apenas de estrato córneo, com características próximas ao estrato córneo humano credenciando a pele deste animal como modelo alternativo de estrato córneo (BABY et al., 2008).

Nunes et al., (2005) avaliaram a permeabilidade da indometacina através da pele de cobra *Boa constrictor* obtendo boa reprodutibilidade dos resultados, sugerindo, portanto, que esse tipo de biomembrana pode ser aplicado como modelo de estrato córneo para avaliação *in vitro* de permeação de fármacos.

Figura 2 - Fotografia da muda da pele de cobra *Boa constrictor* (arquivo pessoal).



3.2 Emulsões

As emulsões consistem em sistemas dispersos formados por pelo menos duas fases líquidas imiscíveis, sendo uma denominada de fase interna ou dispersa, que forma pequenas gotículas que podem variar entre 0,1 e 100 μm em outro líquido que é a fase contínua ou dispersante (AULTON, 2005; ANSEL et al., 2009).

Os agentes emulsificantes, também chamados de tensoativos, tem como propriedade diminuir a tensão interfacial entre o óleo e a água, tendo assim um papel fundamental na estabilização de emulsões. Todavia estes compostos não conseguem diminuir a tensão interfacial a ponto de contrariar totalmente a energia livre de superfície provocada pelo aumento da área interfacial. Estes possuem em sua estrutura um grupo hidrofílico e outro grupo lipofílico, esta característica anfifílica confere a capacidade de reduzir a tensão superficial (AULTON, 2005; MORAIS, 2006; TOPAN, 2012).

Sendo assim, as emulsões apresentam-se como sistemas termodinamicamente instáveis. Daí a necessidade de utilização de agentes emulsificantes, para que forme uma camada estável ao redor das gotículas dispersas, evitando assim a coalescência e retardando pelo maior tempo possível a separação das fases (TOPAN, 2012).

A estabilidade de um sistema emulsionado pode ser analisada de acordo com a equação de Stokes que descreve a velocidade de sedimentação das gotículas (LOCHHEAD, 1994; MARTIN, 1993; RAMALHO; OLIVEIRA, 1999).

Segundo a equação de Stokes, a velocidade de sedimentação das gotículas é diretamente proporcional ao raio da mesma e inversamente proporcional à viscosidade da fase contínua ou dispersante (BECHER, 1972; LUZ; LIMA, 2001):

$$V = \frac{2r^2 \times g (d_1 - d_2)}{9 \mu}$$

Sendo: V = velocidade de sedimentação das gotículas (m/s); R = raio da gotícula (mm); d_1 = densidade da fase dispersa (kg/m^3); d_2 = densidade da fase dispersante (kg/m^3); g = gravidade (m/s^2) e μ = viscosidade da fase contínua (Pa.s).

A fabricação de emulsões que possuam pequenas gotículas, no mínimo inferior a 5 μm , dispersas numa fase externa que possua viscosidade, possibilita uma maior estabilidade do sistema (FRIEBERG et al., 1987).

Dessa forma, as emulsões são constituídas por três componentes: fase dispersa, fase dispersante e agente emulsificante. De acordo com o grau de hidrofília ou lipofília da fase dispersante, podem ser formadas emulsões simples do tipo água em óleo (A/O), onde as gotículas de água estão dispersas no óleo (fase dispersante), ou emulsões do tipo óleo em água (O/A), onde as gotículas de óleo estão dispersas na água. Também podemos formar as emulsões múltiplas que podem ser de água em óleo em água (A/O/A) ou óleo em água em óleo (O/A/O). Contudo, as emulsões mais utilizadas por possuírem maior facilidade de aplicação e menor oleosidade são as do tipo óleo em água (O/A) (MORAIS, 2006).

As emulsões são muito utilizadas na área farmacêutica para os tratamentos tópicos, pela sua capacidade de veiculação de princípios ativos hidrossolúveis e/ou lipossolúveis, diminuindo assim a irritabilidade dérmica de certos fármacos e principalmente gerando uma boa aceitação por parte do paciente (LACHMAN et al., 2001).

3.2.1 Sistema EHL

O método do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) é bastante útil para definir a proporção e as características dos agentes emulsificantes necessários à produção de emulsões fisicamente mais estáveis (ANSEL et al., 2009; AULTON, 2005; LACHMAN et al., 2001; ZANIN et al., 2002).

Os métodos de determinação do EHL são classificados em três categorias, sendo elas: o método teórico, relacionando o EHL de um tensoativo com sua estrutura molecular; o método direto, comparando visualmente o comportamento de tensoativos com padrões de EHL conhecidos e métodos indiretos, relacionando componentes físico-químicos mensuráveis com o EHL dos compostos (ZANIN et al., 2002).

Para cada substância se atribui um número ou valor de EHL, que indica a polaridade da substância. Os valores usuais são de 1-20, embora cheguem a 40. Os números mais elevados correspondem aos elementos altamente polares ou hidrofílicos e os mais baixos aos menos polares ou lipofílicos (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001).

No sistema EHL também se atribui um valor de EHL aos óleos e substâncias semelhantes e quando da elaboração da emulsão, escolhe-se os emulsificantes que possuam o valor de EHL mais próximo ao valor da fase oleosa da emulsão pretendida.

O valor de EHL em que foi obtida a emulsão estável será considerado como valor do EHL crítico do óleo (MORAIS, 2006).

3.2.2 Estabilidade das emulsões

A estabilidade física é a propriedade que os produtos em geral possuem de manter de forma inalterada as suas características físicas, como cor, odor, textura, consistência, sensação ao tato e comportamento reológico, após sua fabricação e durante todo o seu período de validade (CAMARGO JÚNIOR, 2006).

O estudo de estabilidade fornece indicações sobre o comportamento do produto em determinado intervalo de tempo, frente a condições ambientais, condições exageradas de temperatura, umidade, luz e outros a que possa ser submetido, desde a fabricação até o término da validade. Portanto, visa determinar o prazo de validade e garantir a confiabilidade e segurança dos produtos (BRASIL, 2004).

Uma emulsão é considerada estável quando mantém os constituintes da fase oleosa dispersa na fase dispersante, ou vice-versa, mesmo, quando submetida a tensões decorrentes de temperatura, agitação e gravidade.

3.2.3 Reologia das emulsões

Reologia é o estudo da deformação e fluidez dos materiais sob a influência de forças externas. Ou seja, é “a resistência ao fluxo ou ao movimento” (CHIEN, 2005). Nos últimos anos, tem havido um grande interesse no estudo da reologia de emulsões, principalmente, devido sua relação com estabilidade do produto (CORRÊA et al., 2005).

As características reológicas são propriedades importantes a serem consideradas na fabricação, estocagem e aplicação de produtos de uso tópico. Cada categoria de produto deve apresentar, assim, um comportamento reológico adequado à sua aplicação, sendo conveniente conhecer as velocidades de deformação das operações a que vão estar sujeitas (LEONARDI; MAIA CAMPOS, 2001; ALMEIDA; BAHIA, 2003; CORRÊA et al., 2005).

A reologia é assunto de extrema importância para a área cosmética uma vez que devem ser mantidas as características reológicas (como a consistência) dos produtos de lote para lote, assegurando a qualidade tecnológica do produto acabado e durante

o tempo que permanecem em prateleira (SORIANO et al., 2001; MASSON et al., 2005), além da estabilidade física da formulação ser fundamental para o controle de qualidade, aceitação do consumidor e eficácia da mesma (TADROS, 2004; CORRÊA et al., 2005). A relação entre reologia e estabilidade é reconhecida como um importante parâmetro para o desenvolvimento de formulações (TAMBURIC, 2000; MASSON et al., 2005).

O estudo de reologia tem como objetivo obter informações sobre as propriedades de escoamento e deformação de materiais sob a influência de forças externas. Esse estudo é baseado na aplicação de uma força rotacional (tensão de cisalhamento) progressivamente maior e depois progressivamente menor, num determinado período de tempo, sendo obtida duas curvas, sendo elas ascendente e descendente, respectivamente. Assim, é obtido um gráfico que relaciona os valores de gradiente de cisalhamento e tensão de cisalhamento (MAIA CAMPOS; GIANETI, 2012; GIANETI, 2013).

Nos estudos de reologia existem os sistemas denominados: Newtonianos e os não-Newtonianos. As formulações que apresentam valores constantes de viscosidade, independente da força externa aplicada, apresentam fluxo Newtoniano. Já as formulações que apresentam diminuição ou aumento nos valores de viscosidade em relação à força externa aplicada, ou seja, ao aumento da tensão de cisalhamento, apresentam fluxo não-Newtoniano, que é representado por 3 tipos de curvas: plástica, pseudoplástica e dilatante. (ANSEL, 2000; CAMARGO JUNIOR, 2006).

O comportamento plástico caracteriza-se principalmente pela existência de uma força prévia, necessária para iniciar o processo de deslocamento das camadas moleculares, denominada tensão de cedência (NETZ, 2002; ALMEIDA; BAHIA, 2003).

É encontrado em suspensões concentradas, especialmente se a fase continua for de alta viscosidade ou se as partículas estiverem floculadas (AULTON, 2005). Alguns géis, unguentos e cremes concentrados também são exemplos de substâncias que apresentam comportamento plástico (FERREIRA, 2008).

Para as formulações dermocosméticas, o fluxo pseudoplástico é o mais comum e o mais interessante para os produtos cosméticos. Esses materiais têm sua viscosidade aparente diminuída gradualmente à medida que aumenta a tensão de cisalhamento, portanto, sua viscosidade não pode ser expressa por um único valor (CORRÊA et al., 2005).

O comportamento dilatante é o tipo de fluxo oposto ao pseudoplástico, que se caracteriza pelo aumento da viscosidade decorrente do aumento da tensão de cisalhamento. Esse efeito é progressivo com o aumento da tensão de cisalhamento, até que, por fim, o material adquire aparência de pasta e o fluxo cessa. Este estado é reversível e a natureza fluida da substância retorna com a remoção da tensão de cisalhamento (AULTON, 2005).

3.3 Café

O café (Figura 3) é uma das matérias-primas com maior importância no comércio internacional e igualmente uma das bebidas mais apreciadas em todo mundo. O café pertence à família Rubiaceae, considerada cosmopolita com distribuição nas regiões tropicais, e ao gênero *Coffea*. E, dentro deste gênero, há mais de 60 espécies. Na indústria do café, utilizam-se duas espécies de café, *Coffea arabica* variedade arábica (cerca de 70% da produção mundial) e *Coffea canephora* variedade robusta (30%) (CHIQUIERI et al., 2004).

Caracteriza-se por frutos ovóides com cores vermelhas ou amarelas, contendo duas sementes cartilaginosas, envoltas em uma polpa adocicada e comestível. Sabe-se que o alto valor desta planta reside quase exclusivamente na sua semente, de onde se prepara a bebida denominada café (BRUNETON, 1991; SILVA, 2005).

A espécie Arábica, oriunda de regiões montanhosas, é um arbusto delicado, de produção entre pequena e média, possui de 5 a 6 metros de altura e necessita de clima temperado para seu desenvolvimento. Já o arbusto da espécie Robusta é mais produtivo e resistente a doenças, se desenvolvendo bem em climas quentes e úmidos e pode atingir até 12 m de altura (ILLY, 2002; LEITE, 2009). Entretanto, a espécie Arábica é usada em maior escala para a produção de café em todo o mundo, o que significa um maior gasto com os cuidados no cultivo (CHANAKYA; ALWIS, 2004).

Figura 3 - Grãos de café do tipo arábico (disponível em <http://cafecompolenta.com.br/saiba-como-nasceu-a-paixao-pelo-cafe/> - acessado 13/12/2015).



A espécie *C. arabica* é a mais cultivada no Brasil, sendo o país o maior produtor mundial de frutos desta espécie (SILVA, 2005). O consumo mundial de café passou de uma média de 2,09 milhões de toneladas nos anos de 1960 para 3,65 milhões de toneladas na década de 1990, tendo atingido uma média de 2,63 milhões de toneladas por ano entre 2001 e 2004 (PENAFORT, 2008).

De acordo com o relatório de consumo da ABIC, o consumo de café no Brasil recuou 1,23% em 2013, totalizando 20,08 milhões de sacas de 60 kg, em comparação com 20,33 milhões de sacas em 2012. O Brasil é o segundo maior consumidor mundial de café, atrás apenas dos Estados Unidos. Mas em termos de consumo per capita, o país se posiciona entre o 7º e 8º lugar, segundo a ABIC, no mesmo patamar de países como Itália e França (ABIC, 2013).

Segundo a ABIC cada brasileiro consumiu em 2013 cerca de 4,87 kg café torrado/habitante.ano. Este alto consumo gera uma quantidade considerável de resíduo: a borra do café. A borra do café é obtida através da produção de café solúvel pelas indústrias, pela produção do café coado convencional ou pela produção do café expresso em cafeterias ou residências. Na indústria de café solúvel, para cada tonelada de café verde processada, são gerados 650 Kg de borra, e para 1 Kg de café solúvel produzido, são gerados 2 Kg de borra úmida (VEGRO; CARVALHO, 2006).

As quantidades da borra do café geradas em cafeterias, restaurantes, residências, bares e outros locais, não são registradas devido à dificuldade de contabilizar esse tipo de resíduo em diferentes locais (VEGRO; CARVALHO, 2006). A borra do café é

classificada como um resíduo classe II A - não inerte, o qual apresenta solubilidade em água, biodegradabilidade e combustibilidade.

A borra do café é considerada como resíduo sólido e usualmente utilizada para gerar energia nas caldeiras “ecológicas”. O café solúvel possui 0,1% de lipídios, enquanto que a borra possui cerca de 20% de óleo. As indústrias de café solúvel geram aproximadamente 34 toneladas de borra por dia, o que representa uma capacidade para a produção diária de 1,5 toneladas do óleo de café (ADAMS; DOUGAN, 1985; CABRAL; MORIS, 2010).

O café é rico em óleos, a variedade arábica contém de 12 a 18% e a variedade robusta de 9 a 14%. A maior parte desses óleos é constituída por ácido linoleico (40,3%) e palmítico (34,5%) (TURATTI, 2001; VIDAL, 2001).

O teor de ácido palmítico no óleo de diversas variedades de café verde e torrado apresenta pouca variação, porém ocorre um mínimo decréscimo do seu teor do estado verde e torrado para as borras. Para explicar esse fato pode-se sugerir que o processo de torra tenha pequena influência na estabilidade deste ácido graxo (FONSECA; GUTIERREZ, 1971).

O ácido graxo de maior percentagem é sempre o linoleico, seguido do palmítico, oleico, esteárico, araquídico e linolênico (KAUFMAN; HAMSAGAR, 1962; BARBIROLI, 1966; FONSECA; GUTIERREZ, 1971). Os ácidos graxos esteárico, oleico, linoleico, linolênico e araquídico sofrem aumento do teor do café verde e torrado para as borras, já o palmítico sofre redução (FONSECA; GUTIERREZ, 1971).

Contudo, os teores de óleo e de ácidos graxos nas borras que são obtidas pelo processo caseiro e industrial apresentam pouca diferença, embora os processos de obtenção sejam distintos (FONSECA; GUTIERREZ, 1971).

O reaproveitamento da borra do café tem sido uma das prioridades dos países produtores, devido a razões ecológicas, econômicas e sociais (PANDEY et al., 2000; RATHINAVELU; GRAZIOSI, 2005; OLIVEIRA, 2014). Entre as possíveis aplicações da borra do café, podemos citar o uso como ração animal, em que a composição de aminoácidos afeta diretamente o seu valor nutricional. Esta também pode ser utilizada como adubo nas plantações, sendo diretamente jogada ao solo, úmida ou seca (VIOTTO, 1991). Na indústria alimentícia, a borra pode ser utilizada na fabricação de biscoitos devido a sua elevada quantidade de fibras alimentares (CABRAL; MORIS, 2010).

Além disso, o óleo obtido da borra do café pode ser utilizado para produção do biodiesel. A busca por fontes renováveis e menos ofensivas ao meio ambiente chamada de “produção mais limpa” gerou um incentivo as pesquisas de produção de biodiesel a partir de um resíduo industrial, a borra do café. Os cientistas da Universidade de Nevada, nos Estados Unidos, comprovaram que a borra do café é tão eficiente quanto a soja para produzir biocombustível. A borra contém aproximadamente de 11% a 20% de óleo, que poderia ser convertido em biodiesel (CABRAL; MORIS, 2010).

Os óleos vegetais estão cada vez mais sendo empregados em formulações cosméticas por apresentarem em sua composição ácidos graxos semelhantes aos existentes na epiderme (LEONARDI, 2004; PEREIRA, 2011), além de apresentarem atividade antioxidante, ajudando no processo antienvhecimento causado pelos radicais livres (PEREIRA, 2011).

Uma vez que ácidos graxos, saturados e insaturados, estão presentes na constituição do óleo obtido a partir da borra do café, podendo conferir a este propriedades emolientes quando incorporados em formulações dermocosméticas, é de grande importância investigar suas características, visando a utilização deste óleo como um novo ingrediente dermofarmacêutico e cosmético (PEREIRA; MIGUEL; MIGUEL, 2005).

3.4 Lapachol

O lapachol (2-hidróxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftalenodiona), fórmula química $C_{15}H_{14}O_3$, foi isolado pela primeira vez a partir de *Tabebuia avellanae* (Bignoniaceae). A *Tabebuia avellanae* é conhecida no Brasil como "pau d'arco" (ou ipê-roxo ou lapachol) e sua casca é usada como analgésico, anti-inflamatório, diurético e antineoplásico pela população local em diversas regiões do Brasil (HUSSAIN et al., 2007; TABOSA, 2014). O lapachol é um composto sólido cristalino, de cor amarela, possui a forma de cristais prismáticos, de peso molecular 242,26. Sua faixa de fusão é de 141 - 143 °C e possui um pKa de 6,15 (OSSOWSKI et al., 2008; EPIFANO et al., 2013; TABOSA, 2014). É bastante solúvel em acetona, etanol, metanol, clorofórmio, benzeno e ácido acético; solúvel em éter etílico; insolúvel em água, embora a sua solubilidade seja muito afetada pelo pH, variando de 1,5 µg/mL em pH 4 a 5 mg/mL em pH 10,0, apresentando comportamento típico de uma

substância ionizável fracamente ácida (FONSECA, 2001; TABOSA, 2014). O coeficiente de partição (log P) é 2,69 (PISANO et al., 1986; TABOSA, 2014).

3.5 Metronidazol

O metronidazol foi originalmente introduzido na terapia humana para o tratamento de tricomoníase, sendo hoje utilizado principalmente para infecções anaeróbias, protozoárias e do trato gastrointestinal, e como agente anti-inflamatório (LAMP et al., 1999; SILVA, 2002; CATHERINE; ZIP, 2010; ARAUJO, 2016).

O metronidazol (2-metil-5-nitroimidazol) fórmula química $C_6H_9N_3O_3$, tem peso molecular de 171,15 g/mol. Apresenta-se como um pó cristalino, branco ou levemente amarelado com faixa de fusão 159 °C a 163 °C (F. BRAS, 2010). Pertence à categoria de classe I do sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), apresentando alta permeabilidade alta solubilidade em água (ISSA, 2011). Possui um pKa 2,38 (SHALAEVA et al., 2008) e coeficiente de partição (log P) é de -0,020 (HANSCH et al., 1995).

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção do óleo da borra do café

A borra do café foi obtida por doação de residências, já o óleo da borra do café foi obtido a partir de uma parceria feita com o Laboratório de Química do Colégio de Aplicação da Universidade Federal de Pernambuco (CAp-UFPE). A borra foi colocada para secar por 24 horas em estufa Quimis a 100 °C. A extração do óleo foi realizada por um extrator Soxhlet utilizando hexano P.A como solvente. A separação da mistura óleo/solvente foi feita em equipamento de rotaevaporação da marca Quimis 713 a uma temperatura de 10 °C.

4.2 Caracterização físico-química do óleo da borra do café

As análises de acidez, saponificação, iodo e peróxidos foram realizadas em triplicata de acordo com o método geral preconizado pela Farmacopéia Brasileira V (2010).

Para caracterização também lançou-se mão do espectro integrado de RMN ¹H, que utiliza os valores das áreas encontradas em deslocamentos específicos no espectro, onde foram utilizadas as equações de Carneiro e colaboradores (2005) (Tabela 1) para obtenção dos valores físico-químicos tais como, acidez, saponificação e iodo, que foram utilizados na comparação com as análises por volumetria. Os espectros de RMN ¹H foram obtidos através de espectrômetro Varian, modelo UNITY plus-300 MHz utilizando clorofórmio deuterado como solvente. Foram acumuladas 16 repetições para cada decaimento induzido e tempo de aquisição de aproximadamente 4 segundos.

Tabela 1 - Fórmulas utilizadas para obtenção de parâmetros físico-químicos através da utilização de espectros integrados de RMN ¹H.

Parâmetro	Fórmula
Teor de Hidrogênios Vinílicos (V)	$V = (\text{área do deslocamento em } 2 \text{ ppm} / 2) + \text{área do deslocamento em } 2,9 \text{ ppm}$

Massa Molecular (MM) g/mol	$MM = 119.70 + 7.036 \times t + 5.983 V$
Índice de Iodo (II) gI/100 g	$II = [126.91 \times 100 V]/MM$
Índice de Saponificação (IS) mg KOH/g	$IS = -0.2358 \times MM + 398.42$
Estado de Oxidação (Roa)	Roa = V/área do deslocamento em 0,9 ppm (referente a soma dos hidrogênios ligados ao grupo metila)
Índice de Acidez	$IA = 3.0597 [Roa]^2 - 6.3181 Roa + 3.3381$
Grau de Insaturação (GI)	$GI = E/12$
Conteúdo Linolênico (LN)	$LN = B/[B+A]$
Conteúdo Linoleico (L)	$L = G/6 - 2Ln$
Conteúdo Oleico (O)	$O = E/12 - G/6 + Ln$

4.2.1 Análise térmica

4.2.1.1 Termogravimetria (TGA)

A curva de TGA do óleo da borra do café foi obtida em termobalança Netzsch, modelo STA-449F3, sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 ml.min⁻¹, em porta amostra de alumínio, sob razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ numa faixa de temperatura de 40 °C a 600 °C. O experimento foi realizado com 19 mg de amostra.

4.2.1.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A curva de DSC do óleo da borra do café foi obtida por meio do calorímetro Netzsch, modelo DSC-60, atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 ml.min⁻¹, em porta amostra de alumínio, sob razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ numa faixa de temperatura de 46 °C a 600 °C. O experimento foi realizado com 19 mg de amostra.

4.2.2 Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectroscopia de Massas (CG/MS)

A composição de ácidos graxos majoritários foi realizada por esterificação seguida da técnica de Cromatografia Gasosa associada a Espectrometria de Massas (CG/MS), através de um equipamento marca Thermo Scientific de modelo TRACE 1300. O gás de arraste utilizado foi Hélio com vazão igual a 1 mL/min. Foi utilizada a biblioteca Mainlib para identificação dos tipos de ácidos presentes nas amostras.

4.3 Determinação do EHL crítico do óleo

O método utilizado foi o método indireto, consistindo na preparação de emulsões seriadas do óleo em questão, obtidas utilizando um par de emulgentes de EHL conhecido, misturados em proporções variáveis, de modo a originarem valores definidos e escalonados de EHL (PRISTA et al., 1992; WILKINSON et al., 1990; ZANIN et al., 2002). Os tensoativos utilizados foram monooleato de sorbitano (Span 80, de EHL 4,3) e monooleato de polioxietilenosorbitano (Tween 80, de EHL 15,0).

As emulsões foram preparadas por aquecimento em banho-maria elétrico a 75 °C das fases aquosa e oleosa separadamente, posteriormente unidas e mantidas sob agitação manual e aquecimento por quinze minutos. Decorrido este tempo, as emulsões foram retiradas do banho-maria, mantendo-se a agitação manual por mais quinze minutos à temperatura ambiente. As emulsões preparadas foram mantidas em repouso por 24h e em seguida analisadas (PRISTA et al., 1992; ZANIN et al., 2002).

Para determinar o EHL do óleo em ensaio, tomou-se como referência a emulsão que apresenta maior estabilidade, ou seja, não apresenta grumos nem separação de fases. Admitiu-se, portanto, que o valor de EHL da emulsão mais estável corresponde ao do óleo em ensaio. O EHL da emulsão foi considerado a soma dos valores correspondentes aos do EHL dos seus constituintes, de acordo com a concentração utilizada (PRISTA et al., 1992; ZANIN et al., 2002). Os valores de EHL estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 - EHL das emulsões preparadas

EMULSÃO	SPAN (%)	TWEEN (%)	ÓLEO (%)	ÁGUA (%)	EHL DA MISTURA
1	90 (4,5 g)	10 (0,5 g)	10%(10 g)	85% (85 g)	5,37
2	80 (4,0 g)	20 (1,0 g)	10%(10 g)	85% (85 g)	6,44
3	70 (3,5 g)	30 (1,5 g)	10%(10 g)	85% (85 g)	7,51
4	60 (3,0 g)	40 (2,0 g)	10%(10 g)	85% (85 g)	8,58
5	50 (2,5 g)	50 (2,5 g)	10%(10 g)	85% (85 g)	9,65
6	40 (2,0 g)	60 (3,0 g)	10%(10 g)	85% (85 g)	10,72
7	30 (1,5 g)	70 (3,5 g)	10%(10 g)	85% (85 g)	11,79

4.4 Desenvolvimento das formulações para avaliação de seus efeitos hidratantes

As emulsões foram preparadas utilizando óleo da borra do café, BHT como antioxidante, Span 80 e Tween 80 como tensoativos, carbopol® 940 e/ou hidroxietilcelulose como agentes de viscosidade e promotores da estabilidade, metilparabeno e propilparabeno como conservantes microbiológicos, em concentrações demonstradas na Tabela 3. A proporção dos tensoativos foi definida em estudo previamente realizado para a determinação do EHL crítico do óleo da borra do café utilizando esse par de tensoativos.

Tabela 3 - Formulações de emulsões com óleo da borra do café

Matérias-primas	Concentração das matérias-primas (p/p)		
	Form. nº 1	Form. nº 2	Form. nº 3
Óleo de café	10,0%	10,0%	10,0%
Span 80	1,5%	1,5%	1,5%
Tween 80	3,5%	3,5%	3,5%
Hidroxietilcelulose	0,2%	--	--
Carbopol®	0,4%	0,5%	0,6%
Metilparabeno	0,18%	0,18%	0,18%
Propilparabeno	0,02%	0,02%	0,02%
BHT	0,1%	0,1%	0,1%
Essência de frutas exóticas	0,05%	0,05%	0,05%
Água q.s.p	100%	100%	100%

As emulsões foram preparadas aquecendo-se as fases separadamente à temperatura não superior a 70 °C. Dispersou-se na fase aquosa a hidroxietilcelulose e o Carbopol 940, seguido do ajuste do pH (pH 6,0 - 6,5) com uma solução de NaOH 20% p/v. A este sistema verteu-se a fase oleosa, submetendo-o à agitação a 1000 rpm (agitador mecânico Fisatom 713D) por 20 minutos. Finalizado o processo de agitação as emulsões foram acondicionadas em recipientes plásticos opacos, sendo então armazenadas no ambiente (25 °C) e em estufa termostatizada a 45 °C.

4.4.1 Estudo de estabilidade acelerada

Avaliação organoléptica

As formulações foram avaliadas visualmente para verificar se ocorreram modificações macroscópicas, tais como: separação de fase, formação de grumos e/ou precipitados, bem como a cor e o odor em relação ao padrão estabelecido.

Sentido de fase

Consiste em diluir 2 mL da emulsão com igual volume de água em um tubo de ensaio. Caso a água se incorporasse bem dentro da emulsão, considerava-se essa do tipo O/A; caso não houvesse boa incorporação, a emulsão era do tipo A/O. (SILVA, 1997).

Centrifugação

O ensaio de resistência à centrifugação é uma técnica bastante utilizada que possibilita rápidas informações sobre a estabilidade de emulsões (MORAIS, 2006). A centrifugação simula um aumento da força de gravidade, aumentando o movimento das gotículas e antecipando possíveis instabilidades como precipitação, separação de fases, sedimentação ou coalescência (BRASIL, 2007).

Neste teste uma amostra de 5 g da emulsão foi centrifugada a 3000 força G durante 30 minutos em centrífuga Centribio 80-2B, em seguida foi verificado se houve ou não a ocorrência de separação de fases (BRASIL, 2004).

Determinação do pH

O pH das formulações foi verificado utilizando um pHmetro digital modelo Hanna pH 21, previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0 a uma temperatura de 25 °C. A análise estatística da variação de pH das formulações foi feita por ANOVA.

4.4.2 Determinação da espalhabilidade

A determinação da espalhabilidade foi realizada por método adaptado de Borghetti e Knorst (2006). Em uma placa de vidro disposta sobre papel milimetrado, aplicou-se 0,5 g da amostra de cada preparação e sobre a amostra foi colocada uma placa de vidro de peso conhecido. Após um minuto de espalhamento, o diâmetro foi aferido em posições opostas e calculado o diâmetro médio. Para análise estatística dos valores obtidos de espalhabilidade foi utilizada a análise de variância (ANOVA). Subsequentemente, o mesmo procedimento foi repetido até um total de 5 placas. Os resultados foram expressos em espalhabilidade da amostra em função do peso

aplicado, de acordo com a equação abaixo (KNORST, 1991; BORGHETTI et al., 2006):

$$E_i = d^2 \times \pi/4$$

Onde, E_i = espalhabilidade da amostra para um determinado peso i (mm^2);
 d = diâmetro médio (mm).

4.4.3 Análise do tamanho das gotículas das emulsões

Para a medição do tamanho de gotícula foi utilizado o método proposto por Coelho (2005). Onde a amostra foi diluída em solução propilenoglicol/água 1:1, na proporção de uma parte de amostra para vinte partes de solução, sendo em seguida a lâmina preparada e observada em microscópio óptico Bioval com objetivas de 10, 40 ou 100x de magnitude e uma ocular de 10 aumentos, onde foi feita a aferição do diâmetro de 100 gotículas com régua em escala micrométrica acoplada à ocular.

4.4.4 Estudo de estabilidade física por determinação do comportamento reológico

Para a avaliação da estabilidade física das formulações objeto de estudo, estas foram preparadas 24 horas antes da primeira análise e acondicionadas em potes plásticos opacos, sendo então armazenadas no ambiente ($25\text{ }^\circ\text{C}$) e em estufa termostatizada a $45\text{ }^\circ\text{C}$ por um período de 30 dias.

Nos tempos 0 e 30 dias foram retiradas amostras das formulações que permaneceram por 24 horas em temperatura ambiente, para a determinação da viscosidade e do comportamento reológico (CAMARGO JÚNIOR, 2006). Posteriormente os valores obtidos de viscosidade e comportamento reológico receberam o tratamento estatístico da análise de variância (ANOVA).

As propriedades reológicas e a viscosidade das formulações foram avaliadas com auxílio de viscosímetro rotacional da marca Rheology International.

Procederam-se às análises utilizando 15 gramas das amostras e spindle ASTM 7. Todas as medidas foram efetuadas a $25\text{ }^\circ\text{C}$ e utilizando velocidade de rotação, progressivamente maiores (10 - 100 rpm), para se obter a curva ascendente. O procedimento foi repetido no sentido inverso com velocidades, progressivamente menores (100 - 10 rpm), para se obter a curva descendente. Os gráficos obtidos

relacionam valores de velocidade de cisalhamento (1/s), valores de tensão de cisalhamento (N/m²) e viscosidade dinâmica (Pa.s). A viscosidade aparente de cada formulação foi verificada com velocidade de rotação do spindle a 50 rpm.

4.5 Avaliação do efeito hidratante das formulações na pele humana

Tratou-se de um estudo randomizado, simples-cego, envolvendo 20 voluntárias sadias, em dose única e dose repetida. Os experimentos foram realizados em sala climatizada, com temperatura ambiente de 22,0 °C ± 1,0 °C e umidade relativa do ar de 50 ± 5%. As medidas de hidratação, expressas em unidades corneométricas, pela metodologia de capacitância, que se baseia na variação da constante dielétrica da água, onde serão obtidas com o equipamento Corneometer® (Kourage&Khazaka). A unidade de medida que o equipamento fornece os resultados é em unidades arbitrárias (UA, onde 1 UA equivale aproximadamente a 0,2 - 0,9 mg de água por grama de estrato córneo (SOUSA, 2013).

O poder hidratante de formulação contendo óleo da borra do café foi comparado com a formulação veículo e com a mesma formulação contendo óleo de amêndoas doces (OAD), utilizada como referência por suas reconhecidas qualidades cosméticas (SILVA, 1997).

Para a realização do estudo, foi escolhida a porção inferior média dos antebraços de 20 voluntárias, previamente selecionadas. Foram efetuadas 10 medições em cada região dos antebraços das voluntárias, e posteriormente foi calculada a média dos valores obtidos. O número de medições realizadas em cada região, foi determinada conforme o tamanho da região estudada, de maneira a garantir que todo o local fosse avaliado (CAMARGO JÚNIOR, 2006).

As voluntárias apresentaram idades entre 20 e 40 anos, não fumavam, não apresentavam alterações hormonais significativas como menopausa, hiper ou hipotireoidismo, não apresentavam nenhum tipo de alergia ou dermatose nas regiões dos antebraços, entre outros. As voluntárias não usaram nenhum tipo de produto cosmético nos antebraços 24 horas antes dos experimentos (CORTE, 2006). As voluntárias permanecerão 15 minutos nesse local, antes da primeira medida da hidratação cutânea.

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco/Brasil, sob o registro – CAAE Nº

16847813.7.0000.5208. Todas as voluntárias que participaram do estudo leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, declarando estar de acordo em participar da pesquisa proposta, bem como, cientes dos procedimentos, seus riscos e benefícios.

Para discussão dos resultados obtidos, os dados foram tratados estatisticamente através do teste T de Student de comparação de médias.

4.5.1 Avaliação dos efeitos das formulações após uma única aplicação

Para a determinação dos efeitos imediatos, as formulações foram aplicadas nos antebraços de 20 voluntárias, sendo realizadas medidas do conteúdo aquoso do estrato córneo antes e após 2 horas da aplicação única das formulações.

O antebraço direito foi subdividido em duas regiões de 25 cm² cada, onde foram aplicadas, a formulação veículo e a formulação veículo acrescida de 10% de óleo de amêndoas doces. Em uma área também de 25 cm², no braço esquerdo, foi aplicada a formulação veículo acrescida de 10% do óleo de café. Essas regiões e as formulações aplicadas foram randomizadas entre as voluntárias a fim de minimizar as diferenças entre as análises (DAL' BELO et al., 2006).

4.5.2 Avaliação dos efeitos das formulações a longo prazo

Para a determinação dos efeitos a longo prazo, as 20 voluntárias levaram para suas casas duas das três formulações estudadas, que foram aplicadas uma em cada antebraço, duas vezes ao dia, por um período de 20 dias. As duas formulações em estudo, uma com 10% de óleo de café e a outra contendo 10% de óleo de amêndoas doces, foram entregues às voluntárias de forma randomizada, a fim de reduzir as diferenças entre as análises. Passados 20 dias, as voluntárias retornaram ao Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético – NUDFAC/UFPE para a realização das medidas do conteúdo aquoso do estrato córneo.

Com o intuito de que não houvesse engano durante a aplicação das formulações pelas voluntárias durante o período de utilização, elas foram instruídas em termos de quantidade a ser aplicada de cada formulação na sua região específica.

4.6 Avaliação da liberação e permeação *in vitro* do óleo da borra do café como promotor da permeação cutânea do lapachol e metronidazol

A avaliação do potencial do óleo da borra do café como promotor de permeação foi realizada através da comparação entre a quantidade de lapachol e metronidazol (fármacos utilizados como marcadores) liberada e permeada das formulações contendo, ou não, óleo da borra do café.

O perfil de liberação dos fármacos foi definido empregando células de difusão tipo Franz com membranas artificiais de acetato de celulose e para a avaliação da permeação cutânea *in vitro*, optou-se pelo emprego da pele de cobra da espécie *Boa constrictor*. A pele foi doada pelo Laboratório de animais peçonhentos e toxinas (LAPTX) do Centro de Ciências Biológicas da UFPE. Previamente a realização do estudo, as membranas foram hidratadas em tampão fosfato pH 7,4 por um período de 12 horas (BRITO, 2009).

4.6.1 Preparação das formulações

Para a avaliação do óleo da borra do café como promotor da permeação do lapachol e metronidazol, foram preparadas três formulações. Em duas delas o óleo de borra do café estava presente em diferentes concentrações (5 e 10%), e em outra, ele não estava presente, conforme demonstrado nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Formulações utilizadas com lapachol

Formulações	1	2	3
Lapachol (%)	0,5	0,5	0,5
Óleo da borra do café (%)	—	5	10
Carbopol (%)	0,5	0,5	0,5
Etanol/glicerina (70/30) (%)	40	40	40
Água q.s.p (g)	100	100	100

Para a obtenção das formulações contendo o lapachol, o carbopol foi previamente disperso em água. Em seguida preparou-se a fase oleosa e aqueceram-se as duas

fases até aproximadamente 70 °C. Verteu-se a fase oleosa sobre a aquosa, neutralizou-se a preparação utilizando trietanolamina e incorporou-se o fármaco em solução etanol:glicerina (utilizada para dissolução do fármaco, uma vez que o lapachol é insolúvel em água), agitando até o resfriamento (TABOSA, 2014).

Tabela 5 - Formulações utilizadas com metronidazol

Formulações	1	2	3
Metronidazol	0,75	0,75	0,75
Óleo da borra do café (%)	—	5	10
Carbopol (%)	0,5	0,5	0,5
Água q.s.p (g)	100	100	100

Para a obtenção das formulações contendo o metronidazol, o carbopol foi previamente disperso em água juntamente com o fármaco. Em seguida preparou-se a fase oleosa e aqueceram-se as duas fases até aproximadamente 70 °C. Verteu-se a fase oleosa sobre a aquosa, neutralizou-se a preparação utilizando trietanolamina agitando até o resfriamento (ARAUJO, 2016).

4.6.2 Seleção do meio receptor

O meio receptor utilizado para os estudos realizados com o lapachol e metronidazol foi baseado nos testes realizados por Araujo (2016) e Tabosa (2014).

4.6.3 Estudo de liberação e permeação *in vitro*

O estudo de liberação e permeação *in vitro* do lapachol e metronidazol foi realizado utilizando o Microette® (Figura 4), que é composto por células de difusão tipo Franz automatizadas com área difusional de 1,77 cm², e volume de ± 6 mL. Foi utilizada membrana sintética de ésteres (acetato) de celulose (Millipore®), com porosidade de 0,45 µm para o estudo de liberação, e pele de cobra *Boa constrictor* para o estudo de permeação. O compartimento receptor foi preenchido com tampão fosfato pH 7,4 em um sistema composto de seis células individuais conectadas a um banho

termostatzado à $37 \pm 0,5$ °C sob agitação constante em agitador magnético por um período de 6 horas para perfil cinético de liberação e de 24 horas para perfil cinético de permeação. As membranas foram colocadas na parte superior da célula receptora. Essas membranas foram previamente hidratadas em tampão fosfato pH 7,4 por um período de 12 horas. No compartimento doador, foram aplicados 300 mg da formulação diretamente sobre a membrana e as amostras da solução receptora foram coletadas nos seguintes tempos: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 e 6,0 horas para o perfil cinético de liberação; e 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10; 12 e 24 horas para o estudo de permeação. Foram coletados volumes de 1 mL no estudo de liberação e permeação, da solução receptora, sendo automaticamente reposto o meio receptor com tampão fosfato pH 7,4 para manutenção da condição *sink* do sistema.

Figura 4 - Fotografia do Microette® (arquivo pessoal).



4.6.4 Quantificação do lapachol e metronidazol no fluido receptor

Para o estudo de liberação após cada coleta, as amostras das formulações que continham lapachol e metronidazol foram quantificadas por espectrofotometria no ultravioleta utilizando espectrofotômetro modelo UV mini-1240 (Shimadzu®) em 278 nm e 320 nm, respectivamente. Foi preparada uma curva de calibração no intervalo de concentrações de 0,1 - 20 µg/mL, a partir de uma solução mãe a 100 µg/mL.

A metodologia foi validada segundo RE n° 899/03 da ANVISA (BRASIL, 2003), onde a linearidade do método foi verificada nas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10 e 20 µg/mL, sendo a concentração de 10 µg/mL equivalente a 100% de concentração teórica.

No estudo de permeação para análise das amostras provenientes das formulações que continham lapachol foi utilizado o cromatógrafo Shimadzu® com controlador SCL-10, auto Injetor SIL-10AD, bomba LC-10AD e UV-VIS Detector SPD-10AV, com fase móvel composta por metanol e ácido acético 5% (80:20 v/v), bombeada sob fluxo de 1,0 mL/min, com coluna Phenomenex Gemini 5 µm C18, 100 Å, 150 x 4,6 mm, volume de injeção de 20 µL e detecção por ultravioleta em comprimento de 278 nm, com tempo de análise de 7 minutos. Este método foi adaptado de Fonseca (2004).

Para análise das amostras provenientes das formulações que continham metronidazol foi utilizado o cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu® com controlador SCL-10, auto Injetor SIL-10AD, bomba LC-10AD e UV-VIS Detector SPD-10AV, com coluna de fase reversa C18 marca Shimadzu® 150 x 4,6 mm, a 35°C, com fase móvel composta por fosfato de sódio monobásico 20 mM pH 3,0: acetonitrila (88:12 v/v), bombeada sob fluxo de 1,0 mL/min, volume de injeção de 20 µL e detecção por ultravioleta em comprimento de 320 nm, com tempo de análise de 5,5 minutos (TABOSA, 2014). A metodologia foi validada segundo RE n° 899/03 da ANVISA (BRASIL, 2003).

4.6.5 Cálculo do fluxo (J) e do coeficiente de permeabilidade (K_p)

O fluxo (µg/cm²/h) foi calculado a partir do coeficiente de inclinação da reta que obteve um coeficiente de correlação linear superior a 0,9. O K_p foi calculado através da relação entre o fluxo e a concentração do fármaco no compartimento doador (OLIVEIRA et al., 2010; SOUSA, 2013).

4.6.6 Análise estatística

Todos os dados foram tratados estatisticamente por ANOVA (GraphPad Prism versão 5.0 Software). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p \leq 0,05$ e o nível de confiança utilizado foi de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-química do óleo da borra do café

A espectroscopia de RMN ^1H (Apêndice B) é muito útil na análise de óleos, tornando possível avaliá-los em um período muito curto de tempo, apresentando resultados muito semelhantes aos obtidos pelo método clássico.

Os resultados calculados através de espectros integrados de RMN ^1H e o experimental estão representados na tabela abaixo.

Tabela 6 - Caracterização físico-química do óleo da borra do café

Parâmetro	RMN ^1H	Experimental
Massa Molecular	860,03 g/mol	-----
Índice de Iodo	90,60 $\text{gl}_2/100\text{ g}$	100,84 $\text{gl}_2/100\text{ g}$
Índice de Saponificação	195,62 mg KOH/g	190,05 mg KOH/g
Estado de Oxidação (Roa)	0,63	-----
Índice de Acidez	0,58 mg KOH/g	2,24 mg KOH/g
Índice de Peróxido	-----	12,48 meq/Kg
Grau de Insaturação	57%	-----
Conteúdo Linolênico	0%	-----
Conteúdo Linoleico	39%	-----
Conteúdo Oleico	24%	-----

O índice de iodo é usado para medir o grau de insaturação de óleos e gorduras, sendo calculado pelo número de gramas de iodo absorvido por 100 gramas de gordura ou óleo (MORETTO e FETT, 1998). Este é um importante indicador de provável desenvolvimento de degradação da matéria graxa, sendo usado para determinar as propriedades químicas e físicas dos óleos (REDA, 2004). Valor elevado para o índice de iodo favorece a fluidez, no entanto, torna-o susceptível à degradação térmica e oxidativa (FERRARI et al., 2005).

A determinação do índice de iodo é importante para a classificação de óleos e gorduras e para o controle de alguns processamentos (CECCHI, 2003). Para cada óleo existe um intervalo característico do valor do índice de iodo, cujo valor também está relacionado com o método empregado em sua determinação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

O valor obtido neste estudo nos mostra um alto grau de insaturação do óleo da borra do café, corroborando com resultados encontrados na literatura.

Outros óleos vegetais, como exemplo o óleo de soja, apresenta índice de iodo de 126,48 $\text{gl}_2/100 \text{ g}$, o óleo de canola 109,59 $\text{gl}_2/100 \text{ g}$, óleo de milho 116,05 $\text{gl}_2/100 \text{ g}$, óleo de amêndoa 131,11 $\text{gl}_2/100 \text{ g}$ (RAMPAZZO, 2015).

O índice de saponificação pode estabelecer o grau de deterioração e a estabilidade, verifica se as propriedades dos óleos estão de acordo com as especificações, além de fornecer indícios de adulterações da matéria graxa (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). É definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio (KOH) necessários para saponificar os ácidos graxos, resultantes da hidrólise de 1 grama da amostra (MORETTO; FETT, 1998).

Em relação ao índice de saponificação determinado, observa-se que ambos apresentam-se um pouco abaixo do limite especificados pela Farmacopéia Brasileira V (2010), que estabelece valores entre 200 - 300 mg KOH/g , contudo o valor do índice de saponificação encontrado indica que o óleo pode ser utilizado como fonte para obtenção de produtos saponificáveis.

O índice de acidez mostra o estado de conservação do óleo, sendo expresso como número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos livres de um grama da amostra. O índice de acidez elevado é sugestivo que o óleo está sofrendo quebras em sua cadeia, liberando os ácidos graxos livres e sendo de extrema importância na avaliação do estado de deterioração do óleo (F. BRAS. V, 2010).

A acidez livre de uma gordura, provêm da hidrólise parcial dos glicerídeos, motivo pelo qual não é uma constante ou característica e sim uma variável intimamente relacionada com a natureza e a qualidade da matéria-prima, com a qualidade e o grau de pureza da gordura, com seu processamento e condições de conservação (MORETTO; FETT, 1998).

A diferença encontrada para o índice de acidez pelos métodos utilizados no presente estudo, pode ser explicado pelo fato do óleo da borra do café possuir uma coloração escura, assim não sendo possível visualizar o aparecimento da coloração rosa/lilás, correspondente ao ponto de virada da reação de neutralização dos ácidos graxos livres. Ressaltando a importância da análise de RMN ¹H na caracterização de óleos vegetais, visto que não sofre influência da coloração do óleo, e nos fornece resultados confiáveis.

A Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece como valores máximos permitidos para o índice de acidez para óleos e gorduras não refinadas 4,0 mg KOH/g.

O óleo de amêndoas faveleira, apresenta índice de acidez que varia de 0,64 a 0,79 mg KOH/g, valor muito próximo ao encontrado para o óleo da borra do café que também se trata de óleo vegetal (CAVALCANTI et al., 2012).

O índice de peróxido é um dos métodos mais utilizados para medir o estado de oxidação de óleos e gorduras (CECCHI, 2003), determinando em miliequivalentes de KI por 1000 g de amostra, todas as substâncias que oxidam o iodeto de potássio devido à sua ação fortemente oxidante (MORETTO; FETT, 1998).

Este índice nos óleos não deve ultrapassar o valor de 10 meq/1000 g de amostra, a exemplo dos óleos de amendoim, linhaça, babaçu, dendê e semente de uva, dentre outros. O óleo em estudo encontra-se um pouco acima do valor estabelecido, isto indica que o mesmo apresentava degradação oxidativa (MALACRIDA, 2003). O valor de Roa obtido está em consonância com o índice de peróxido.

Utilizando o espectro de RMN ¹H o óleo bruto da borra do café apresentou uma constituição 39% de ácido linoleico, 24% de ácido oleico e não mostrou a presença de ácido linolênico.

A composição química do óleo da borra do café sugerida por Matos et al., (2010) mostrou que foi encontrado 40,1% de ácido linoleico, 10,4% de ácido oleico e 0,40% de ácido linolênico.

Os resultados obtidos demonstram proximidade com os valores sugeridos por Matos et al., (2010) para composição de ácido graxo linoleico e oleico. Entretanto, neste trabalho o ácido graxo linolênico não apresentou valores representativos para caracterizá-lo no óleo da borra do café.

Portanto, os resultados obtidos através do RMN ^1H e método clássico, apresentam-se dentro das especificações, estando de acordo com a resolução.

5.1.1 Análise térmica

Análise térmica é definida como sendo “um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida como função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura” (NUNES, 2013).

Para ser considerada termoanalítica, uma técnica térmica deve medir uma propriedade física, expressar a medida direta ou indiretamente em função da temperatura e realizar a medida sob um controle de temperatura (WENDLANT, 1986; DANTAS, 2006).

A termogravimetria derivada (TG/DTG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) são as abordagens mais utilizadas (NUNES, 2013).

5.1.1.1 Termogravimetria (TGA) e Termogravimetria Derivada (DTG)

A termogravimetria (TGA) é uma técnica que consiste no monitoramento da variação da massa da amostra em função da temperatura e/ou tempo. Esta medida é realizada através da termobalança e registrada na curva termogravimétrica. Através desta curva, é possível obter informações como a temperatura inicial (T_i), temperatura final (T_f) de decomposição e o valor da perda de massa da amostra (WENDLANDT, 1986; NUNES, 2013).

A Termogravimetria Derivada (DTG) é a derivada da variação de massa em relação ao tempo ou temperatura. A curva DTG apresenta as informações de uma maneira visualmente mais acessível, mostrando com mais clareza os pontos inicial e final do processo, onde a área é diretamente proporcional à variação de massa, levando a determinação da temperatura do pico e indicando as temperaturas inicial e final do processo (DANTAS, 2006).

Observa-se na curva de TGA (Figura 5) que o óleo em estudo apresenta estabilidade térmica até aproximadamente 291 °C. A partir desta temperatura, observa-se o início da degradação térmica com três estágios ocorrendo até aproximadamente 506 °C, com perda total de 98,9%, e um resíduo de 1,10% (Tabela 7).

A primeira etapa de decomposição está provavelmente associada à degradação ou oxidação dos ácidos graxos insaturados e de compostos voláteis, a segunda etapa provavelmente está relacionada a degradação de ácidos graxos saturados e a terceira etapa a degradação de produtos oriundos da oxidação (GARCIA et al., 2007).

Estudos realizados por Cavalcanti et al., (2012), mostram que as curvas TGA/DTG do óleo de amêndoas faveleira sem espinho, também apresentam três etapas de perda de massa, com temperaturas de (187,10 °C - 400,77 °C), (399,88 °C - 466,99 °C) e (467,87 °C - 602,96 °C). Etapas estas, muito semelhantes ao óleo da borra do café, que se trata de um óleo vegetal, assim como o de amêndoas faveleira.

Podemos observar com esses resultados, que o óleo em questão apresenta estabilidade térmica similar a outros óleos vegetais que já se encontram no mercado.

Figura 5 - Curva de TGA e DTG do óleo da borra do café em atmosfera de nitrogênio

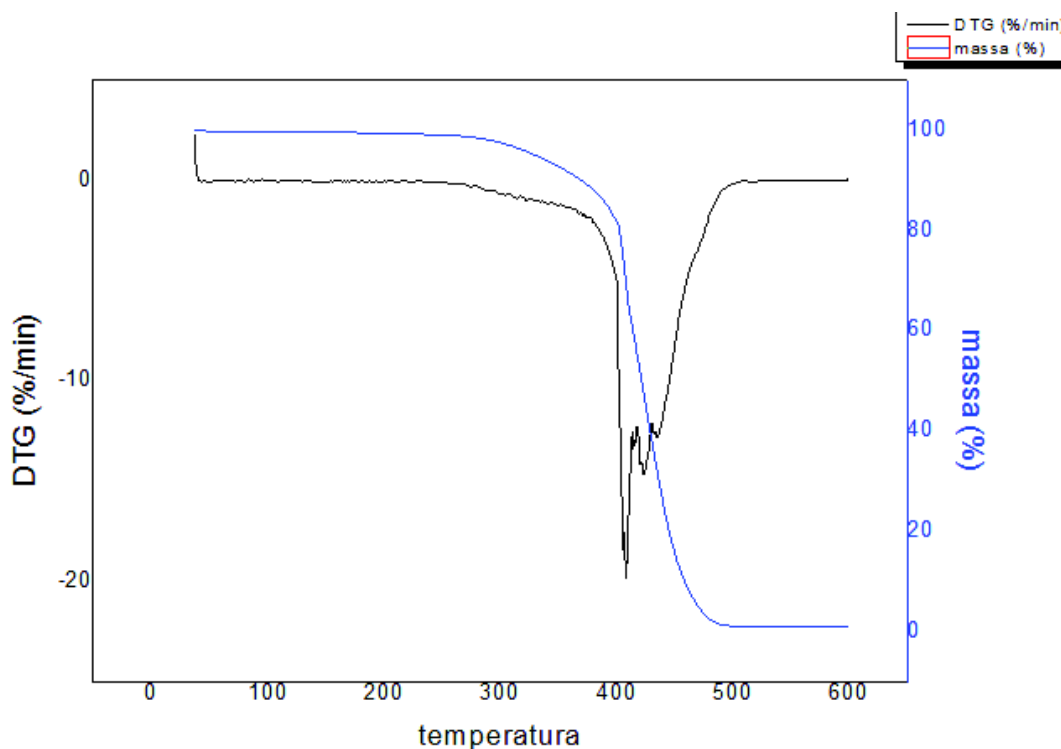


Tabela 7 - Etapas de decomposição do óleo da borra do café

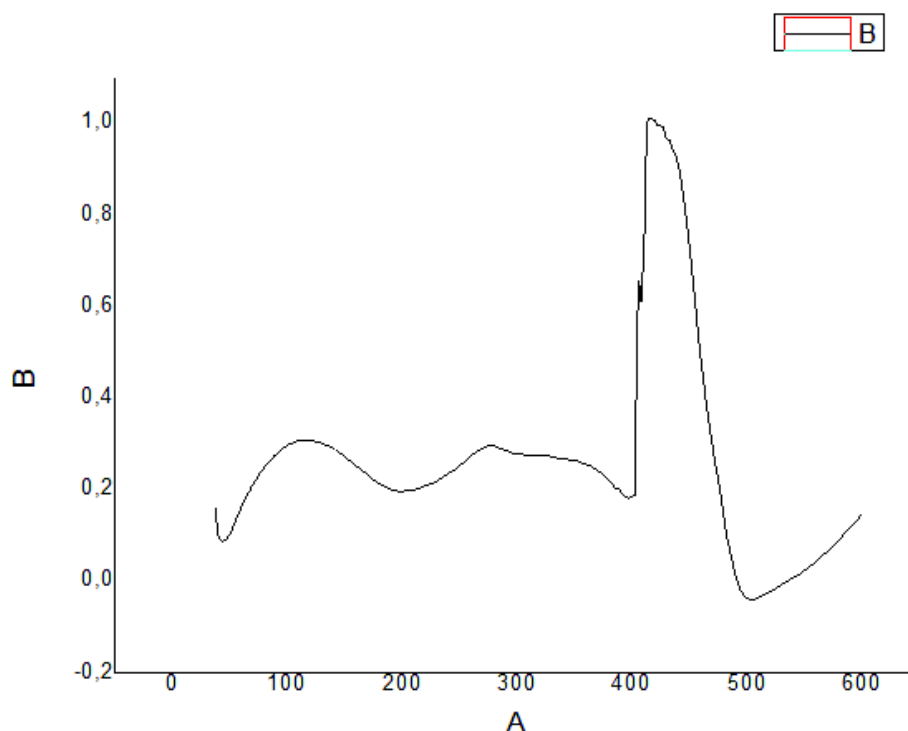
Etapas	Intervalo de temperatura (°C)	Perda de massa (%)
1	291 - 402	20
2	403 - 441	56
3	442 - 506	23
Resíduo	>506	1

5.1.1.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Calorimetria exploratória diferencial (DSC) mede a diferença de energia liberada ou fornecida entre a amostra e um material de referência, termicamente inerte, em função da temperatura, enquanto a amostra e o material de referência são submetidos a uma rampa de aquecimento. Quando a amostra muda de estado físico ou sofre reação química, ocorre liberação ou absorção de calor. Esta técnica mede as variações de energia térmica para manter em equilíbrio as temperaturas da amostra e do material de referência, durante o evento térmico (NUNES, 2013).

A Figura 6 mostra a curva de DSC. A amostra do óleo apresenta três transições exotérmica com temperatura de pico de 123,016 °C, 277,016 °C e 424, 016 °C. Estes eventos são provavelmente associados a vaporização e a combustão de ácidos graxos que formam as moléculas de triacilglicerídeos presentes no óleo da borra do café (CAVALCANTI et al., 2012).

Assim como na análise de TGA/DTG, o DSC do óleo de amêndoas faveleira apresentou grande semelhança com o DSC do óleo da borra do café, pois o óleo de amêndoas também possui três transições exotérmicas (CAVALCANTI et al., 2012).

Figura 6 - Curva DSC do óleo da borra do café em atmosfera dinâmica de nitrogênio

5.1.2 Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC/MS)

A cromatografia é utilizada para uma série de processos no qual as substâncias a serem separadas são submetidas à partição no equilíbrio entre duas fases, estacionária e móvel (JENNINGS et al., 1997; RAMPAZZA, 2015). Esta análise fornece a composição de ácidos graxos presentes a partir da identificação destes em comparação com uma série de padrões previamente analisados e é geralmente utilizada complementando outras análises.

A Tabela 8 traz os resultados obtidos através da análise dos tempos de retenção, indicando a presença dos principais ácidos graxos que fazem parte da molécula de triglicerídeo do óleo.

Tabela 8 - Ácidos graxos majoritários do óleo da borra do café

Tempos de retenção (min)	Atribuição	nº de carbonos: nº de insaturações	Percentual (%)
24,31	Ácido palmítico	C16:0	29,64
26,40	Ácido linoleico	C18:2	40,19
26,46	Ácido oleico	C18:1	13,09
26,81	Ácido esteárico	C18:0	12,99
30,94	Ácido araquídico	C20:0	5,05

A partir da análise da CG/MS, podemos observar que o ácido graxo encontrado em maior porcentagem no óleo da borra do café é o linoleico (40,19%), palmítico (29,64%), oleico (13,09%), esteárico (12,99%) e araquídico (5,05%).

Estudos realizados por Fonseca; Gutierrez (1971), com óleo da borra do café mostra que o ácido graxo de maior porcentagem é o linoleico, seguido do palmítico, oleico, esteárico e araquídico.

A composição química sugerida por Turatti (2001) e Vidal (2001), apresenta 34,5% de ácido palmítico e 40,3% de ácido linoleico.

Os resultados obtidos nesse estudo corroboram com os encontrados na literatura, embora não tenha sido detectado quantidades significativas do ácido linolênico.

Utilizando o espectro de RMN ¹H, que também é útil para obtenção do percentual dos três principais ácidos insaturados presentes nos óleos: oleico (O), linoleico (L) e linolênico (Ln), encontramos resultados que foram de acordo com o obtido por CG/MS (Tabela 9). Podemos assim, observar a ótima correlação entre as duas técnicas, demonstrando o grande grau de confiança na obtenção das características do óleo de forma mais rápida e prática pela análise de RMN ¹H.

Tabela 9 - Conteúdo de ácidos graxos insaturados encontrados no óleo da borra do café por RMN ^1H e CG/MS

Ácidos graxos	RMN	CG/MS
Ácido linolênico	0%	0%
Ácido linoleico	39%	40,19%
Ácido oleico	24%	13,09%

5.2 Determinação do EHL

As emulsões 1, 2, 3, 4 e 5 apresentaram completa separação das fases. Já as emulsões 6 e 7 mostraram-se totalmente homogêneas, correspondendo ao máximo de estabilidade dos sistemas emulsionados. De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que o EHL do óleo de origem vegetal analisado foi de 11,79 (Tabela 10).

Tabela 10 - Resultados dos ensaios de EHL

Emulsão	EHL	Aspecto	Resultado
1	5,37	Separação de fases	Ruim
2	6,44	Separação de fases	Ruim
3	7,51	Separação de fases	Ruim
4	8,58	Separação de fases	Ruim
5	9,65	Separação de fases	Ruim
6	10,72	Homogênea	Bom
7	11,79	Homogênea	Excelente

As duas emulsões homogêneas (6 e 7), obtidas com o óleo da borra do café, foram fotografadas microscopicamente para avaliação das gotículas dispersas, com relação a homogeneidade, agregação e distribuição, sinais característicos de estabilidade do sistema emulsionado e indiretamente indicativos do EHL crítico do sistema. A emulsão 6 (Figura 7) apresentou nítida formação de glóbulos, mas com tamanhos muito diversos, apresentando tamanho médio das gotículas de $0,58 \mu\text{m}$ ($\pm 0,3$). A emulsão

7 (Figura 8) mostrou glóbulos bem formados, sendo mais homogêneos em tamanho e aspecto, distribuídos com uniformidade e tamanho médio das gotículas de $0,35 \mu\text{m}$ ($\pm 0,15$). Portanto, muito grande é a possibilidade dos menores glóbulos agregarem-se aos maiores desestabilizando o sistema mais rapidamente na emulsão 6 do que na emulsão 7, onde a distribuição de tamanho dos glóbulos é mais homogênea, a agregação é menor e a distribuição mais uniforme. Dessa forma, a emulsão 7 foi a escolhida para realização dos estudos de estabilidade.

Figura 7 - Fotografia correspondente a emulsão 6 (Aumento de 1000X)

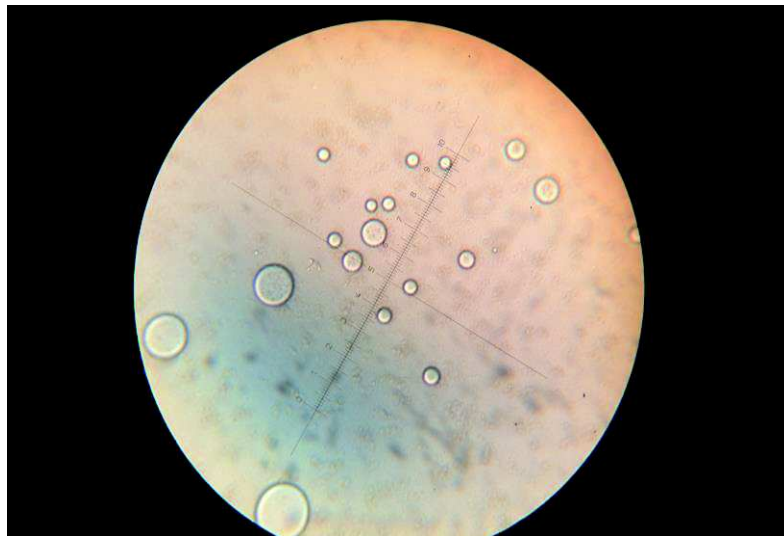


Figura 8 - Fotografia correspondente a emulsão 7 (Aumento de 1000X)



5.3 Estudo de estabilidade acelerada

Avaliação organoléptica

As emulsões submetidas aos ensaios de estabilidade demonstraram semelhança no que se refere à cor, odor e aparência, em relação às emulsões recentemente elaboradas, pois mantiveram o odor característico da formulação inicial, coloração amarronzada e homogêneas, independente das condições e períodos de armazenamento.

Sentido de fase

Todas as emulsões apresentaram sentido óleo/água (O/A), mesmo quando submetidas a tratamentos térmicos. Confirmando a predominância do tensoativo de características hidrofílicas nas emulsões.

Centrifugação

As emulsões mantiveram-se estáveis nos ensaios de centrifugação, não apresentando cremeação, tão pouca separação de fase. Dessa forma, a velocidade de centrifugação não provocou alterações no sistema.

Determinação do pH

O pH das emulsões em estudo foi ajustado para valores entre 6,0 e 6,5 e acompanhado durante os estudos de estabilidade. Os valores obtidos estão expressos na Tabela 11.

Tabela 11 - Valores médios de pH das emulsões armazenadas sob diferentes condições e períodos nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento

	Tempo 0	Após 30 dias - T.A.	Após 30 dias - T 45°C
Formulação 1	6,34 ± 0,21	6,0 ± 0,16	5,98 ± 0,24
Formulação 2	6,24 ± 0,15	6,20 ± 0,10	6,11 ± 0,12
Formulação 3	6,0 ± 0,1	5,80 ± 0,1	5,76 ± 0,14

O pH deve assegurar a estabilidade dos ingredientes de uma formulação, sua eficácia e segurança (BRASIL, 2004), bem como ter compatibilidade com os fluidos biológicos de acordo com a via de administração pretendida. É importante acompanhar o pH de uma formulação no decorrer do tempo pois a maior estabilidade dos sistemas ocorre quando estes são mantidos dentro de uma pequena variação de pH.

As formulações estudadas tiveram o pH ajustado para valores levemente ácidos, em razão de esta ser a faixa de pH ideal para as finalidades propostas, e ainda, para otimizar a viscosidade do polímero utilizado (Carbopol®). De acordo com os resultados demonstrados na Tabela 9 para as emulsões armazenadas nos períodos (24 horas e 30 dias) e em condições diversas de temperatura (ambiente, 45 ± 5 °C), observa-se que as formulações 2 e 3 não apresentaram variação significativa de pH ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{crítico}}$) ($0,97 < 5,17$) e ($1,85 < 5,14$) respectivamente, quando comparadas com o pH das emulsões recentemente obtidas. Diferente da formulação 1 que apresentou variação significativa ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$) ($8,14 > 5,15$). No entanto, observa-se uma discreta diminuição do pH das emulsões armazenadas em estufa. De acordo com Masmoudi et al., (2005), a diminuição do pH pode representar uma oxidação da fase oleosa com formação de hidroperóxidos ou mesmo a hidrólise de triglicerídeos levando à formação de ácidos graxos.

5.4 Determinação da espalhabilidade

Os valores de espalhabilidade obtidos para as emulsões, em função do peso adicionado, estão representados nas Figuras 9, 10 e 11. A espalhabilidade é definida como a expansão de uma formulação semi-sólida sobre uma superfície após um determinado período de tempo. É uma das características essenciais das formas farmacêuticas destinadas à aplicação tópica, pois está intimamente relacionada com a aplicação destas formulações no local de ação (KNORST, 1991; SOUSA 2013).

Os valores de espalhabilidade entre as formulações mostraram diferença estatisticamente significativa ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$) e podemos assim dizer que as formulações são diferentes entre si. Analisando cada formulação, observa-se que entre o momento de sua fabricação e após 30 dias em diferentes condições, a formulação 1 obteve maior variação estatística nos valores de espalhabilidade do que a formulação 2 e esta, maior que a formulação 3. A formulação 3 apresentou menor

espalhabilidade, corroborando com os valores de viscosidade apresentados, uma vez que espalhabilidade e viscosidade são inversamente proporcionais. No que diz respeito a essa formulação ter tido menor variação nos valores de espalhabilidade, isso pode ser explicado pela maior viscosidade dessa, assim sofrendo menos ação de interferentes externos como temperatura, luminosidade, radiação.

Figura 9 - Gráfico da espalhabilidade da formulação 1 em diferentes tempos e condições de armazenamento.

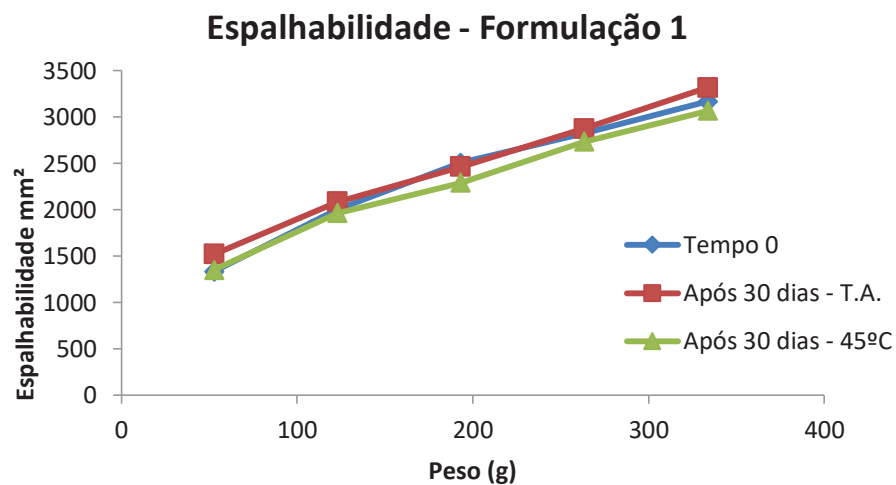


Figura 10 - Gráfico da espalhabilidade da formulação 2 em diferentes tempos e condições de armazenamento.

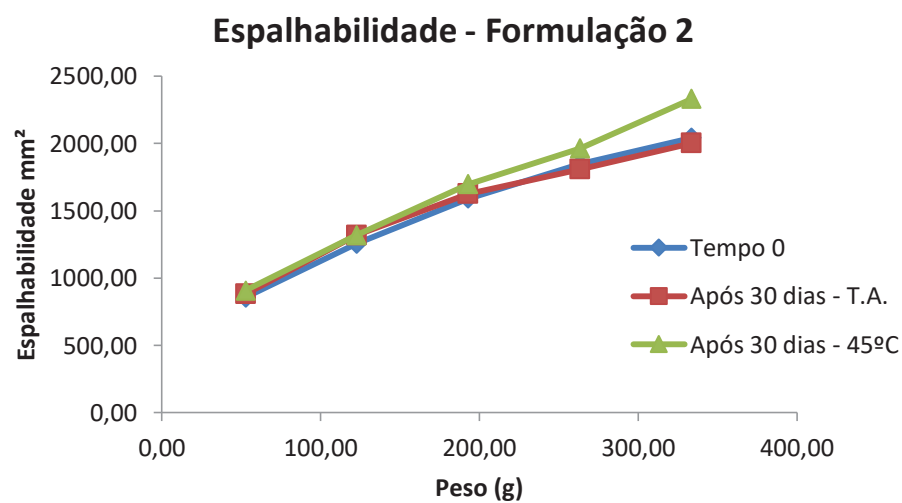
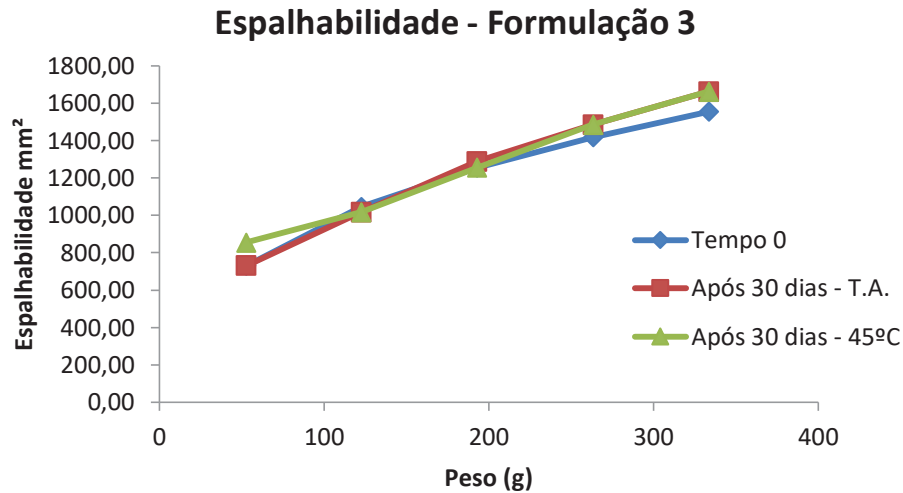


Figura 11 - Gráfico da espalhabilidade da formulação 3 em diferentes tempos e condições de armazenamento.



5.5 Análise do tamanho das gotículas das emulsões

A observação microscópica das gotículas é uma técnica vantajosa para se obter informações sobre a uniformidade da fase interna da emulsão (COELHO, 2005). As Figuras 11, 12 e 13 mostram a dispersão das gotículas na fase contínua. O tamanho médio das gotículas foi $0,4 \mu\text{m} (\pm 0,2)$, $0,3 \mu\text{m} (\pm 0,1)$ e $0,2 \mu\text{m} (\pm 0,1)$ para as formulações 1, 2 e 3, respectivamente. Todas as formulações mostraram gotículas bem formadas, porém a formulação 1 apresentou uma maior proporção de gotículas com grande variação de tamanho, portanto é maior a possibilidade dos menores se agregarem aos maiores e assim venham a desestabilizar o sistema mais rapidamente. Já nas formulações 2 e 3 a distribuição de tamanho das gotículas é homogênea, gerando com isso uma maior estabilidade do sistema emulsionado.

Figura 12 - Microfotografia da formulação 1

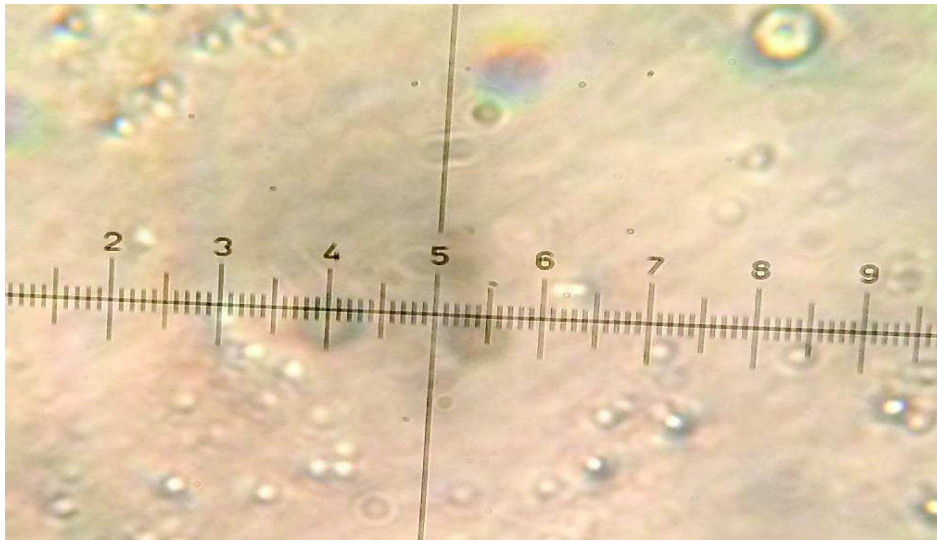


Figura 13 - Microfotografia da formulação 2

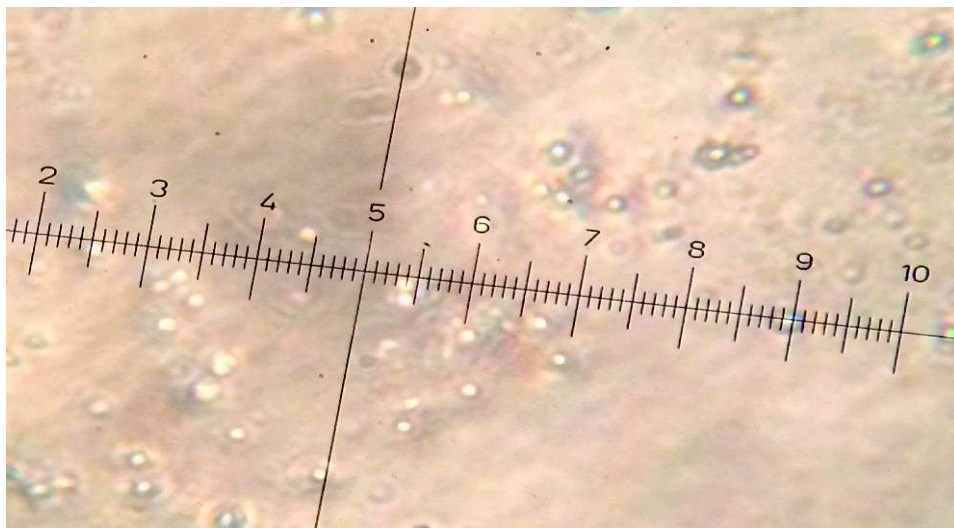
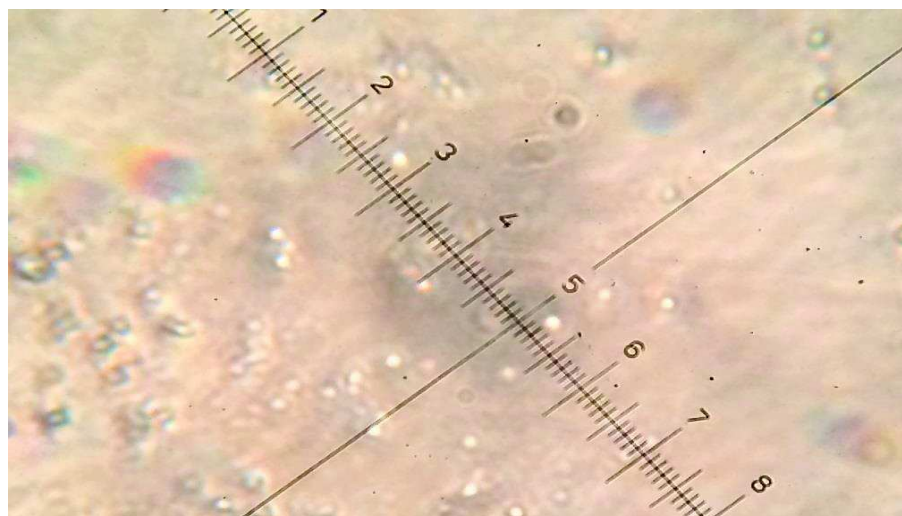


Figura 14 - Microfotografia da formulação 3

5.6 Estudo de estabilidade física por determinação do comportamento reológico

O estudo do comportamento reológico das formulações objeto de estudo foi avaliado por meio dos reogramas (Figuras 15, 16 e 17) e dos valores de viscosidade aparente (Tabela 12), obtidos ao longo do período de 30 dias.

Tabela 12 - Valores médios da viscosidade aparente (Pa/s) a 50 rpm das emulsões nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.

	Tempo 0	Após 30 dias - T.A.	Após 30 dias - T 45°C
Formulação 1	8,64 ± 0,1	7,79 ± 0,35	6,85 ± 0,4
Formulação 2	15,19 ± 0,15	13,21 ± 0,2	11,57 ± 0,3
Formulação 3	18,2 ± 0,1	17,67 ± 0,2	15,75 ± 0,25

Figura 15 - Reogramas da formulação 1 nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.

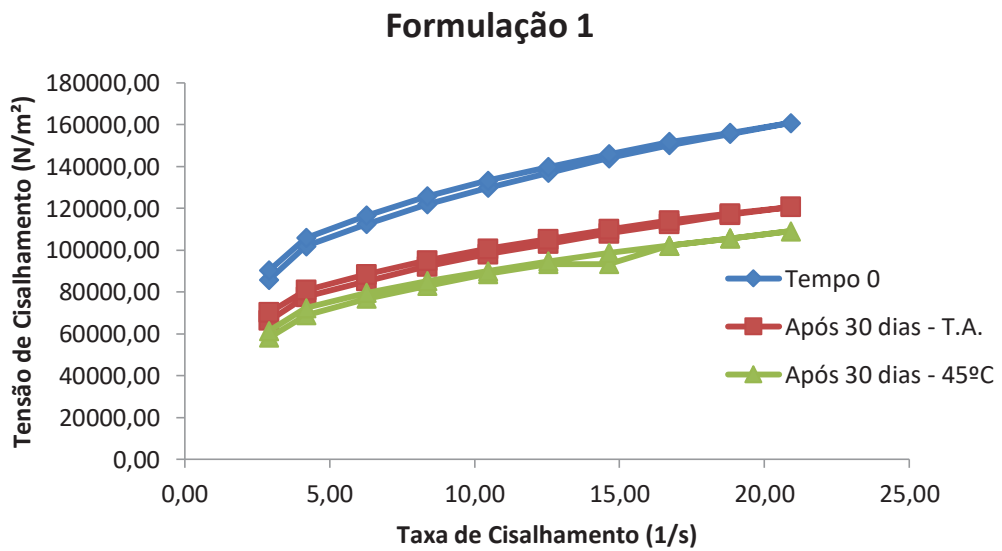
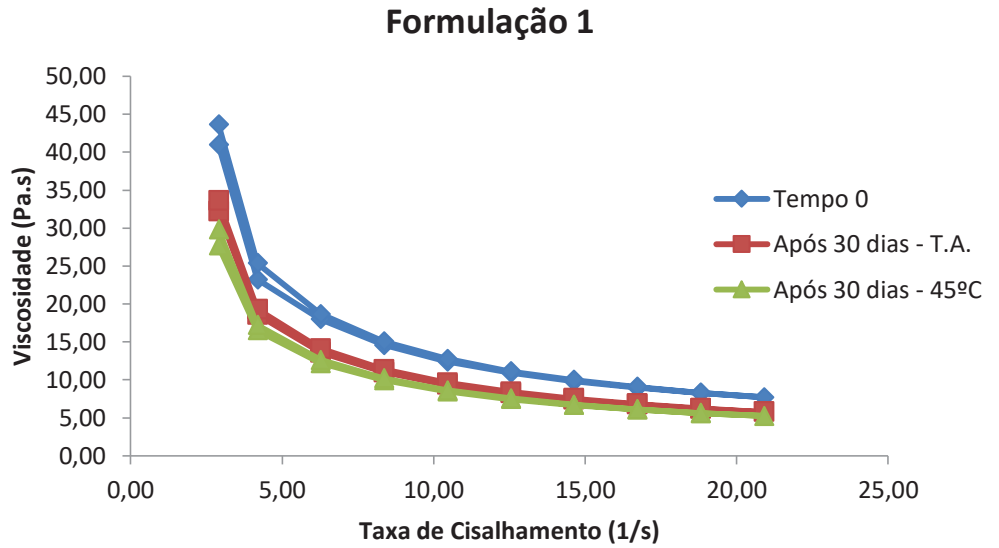


Figura 16 - Reogramas da formulação 2 nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.

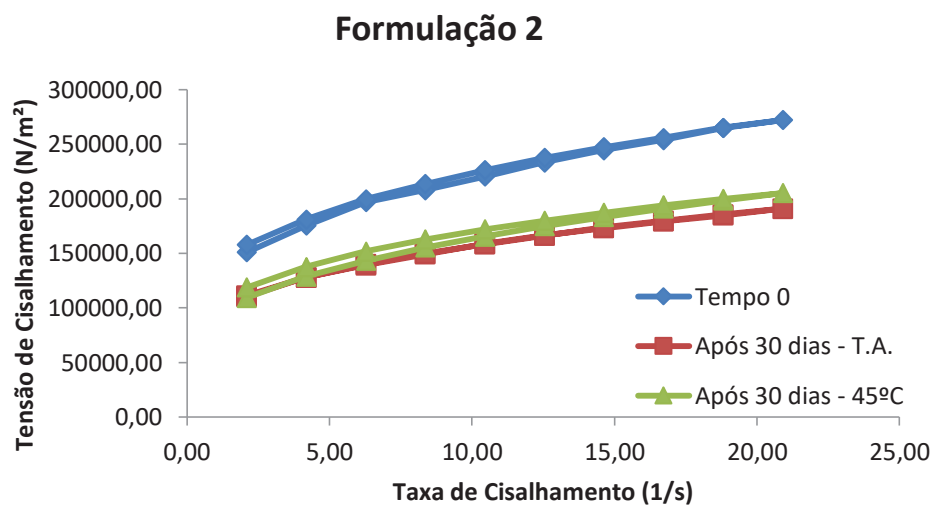
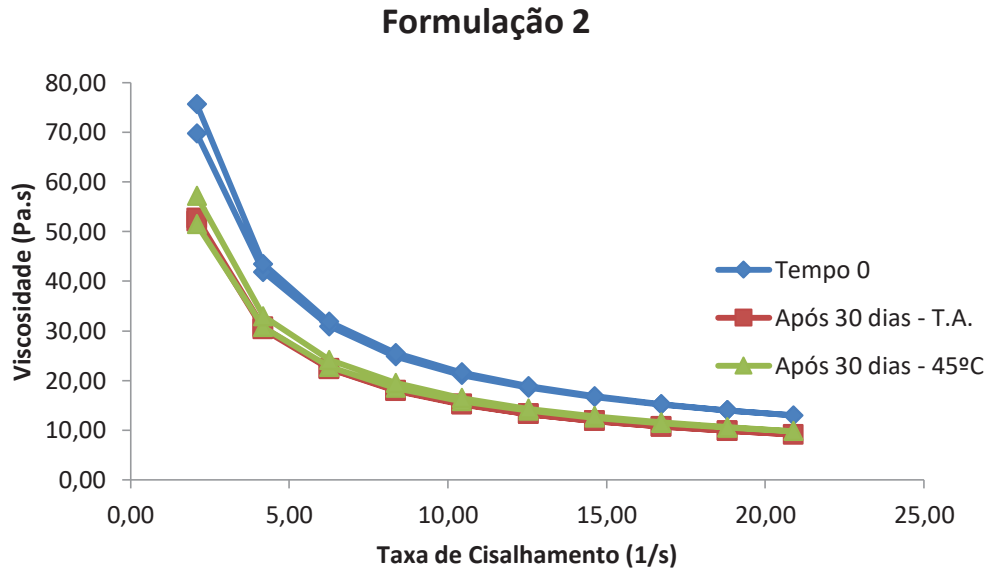
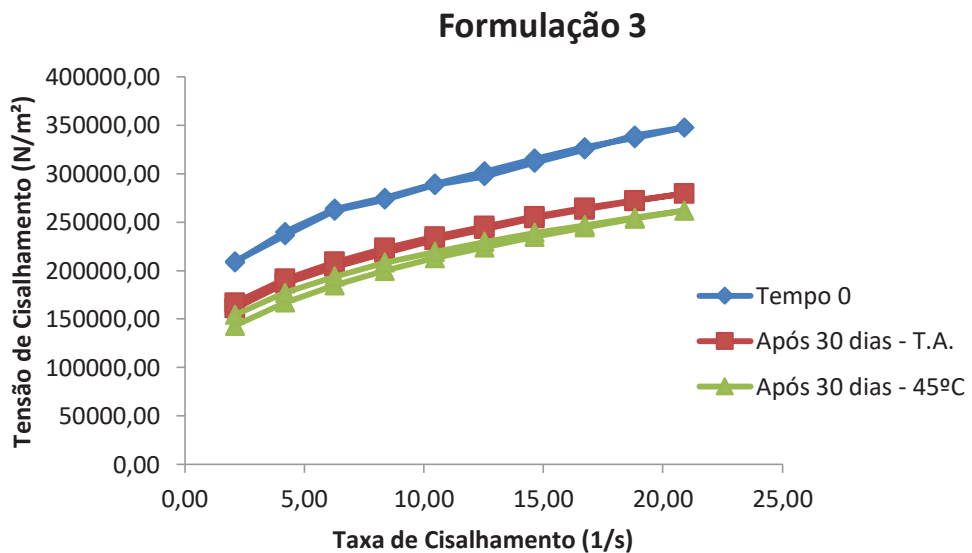
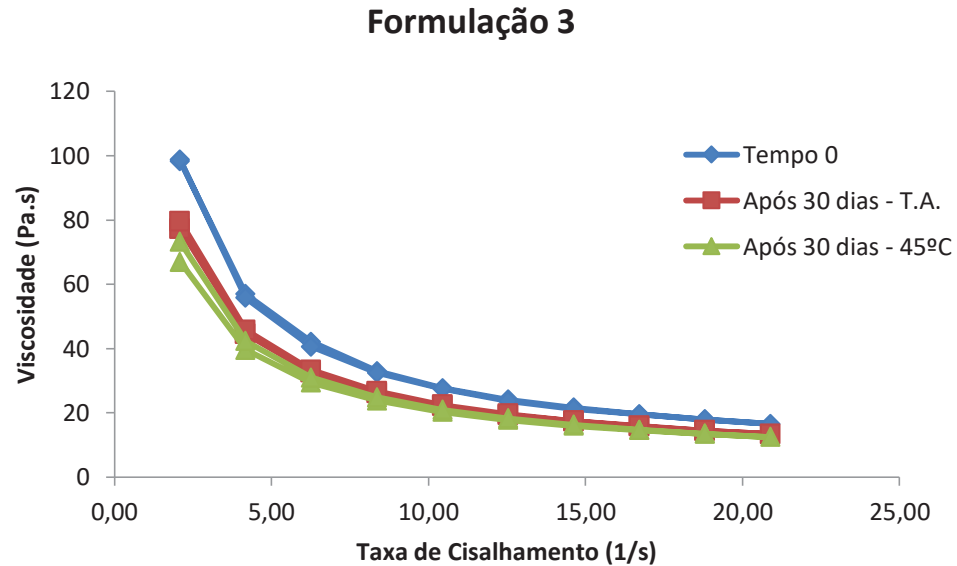


Figura 17 - Reogramas da formulação 3 nos tempos inicial e 30 dias sob diversas condições de armazenamento.



Os valores de viscosidade aparente obtidos mostram que a viscosidade de todas as formulações decresceu durante o período de estudo a temperatura ambiente e quando submetidas à temperatura de 45 °C. As três formulações foram consideradas estatisticamente diferentes ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$). A formulação 3 apresentou maior

viscosidade aparente e a segunda menor variação deste valor nos períodos e condições estudadas. Fato que já era esperado, pois é a formulação que possui um maior percentual de agente de viscosidade (Carbopol®), corroborando com o resultado da espalhabilidade obtido (quanto maior a viscosidade, menor a espalhabilidade).

Pela análise dos reogramas, podemos observar que as formulações não obedeceram à Lei de Newton sendo então consideradas fluidos não-Newtonianos (MARTIN, 1993). Observa-se também que a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento caracterizando um fluido pseudoplástico (MARTIN, 1993; TADROS, 2004). Fato que pode ser visto através dos gráficos da viscosidade que mostram uma relação não-linear entre a viscosidade relativa e taxa de cisalhamento.

O comportamento pseudoplástico apresentado por todas as formulações é uma característica desejável para emulsões, pois os valores de viscosidade são reduzidos com o aumento da tensão de cisalhamento, facilitando a aplicação sobre a pele ((MORAIS et al., 2005). Esse tipo de comportamento é frequente em formulações que contém gomas naturais ou sintéticas e polímeros (PIANOVSKI et al., 2008).

As formulações apresentaram diferença estatisticamente significativa entre seus valores reológicos ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$). Porém, a formulação 3 obteve menor variação estatística nos tempos analisados (T0, após 30 dias T.A e após 30 dias a 45 °C), seguida da formulação 1 e por último a formulação 2. Logo, consideramos a formulação 3 como a emulsão que melhor manteve suas características reológicas durante todo o período de análise sob as diferentes condições mais próximas das características iniciais.

Estudos realizados nas mesmas condições (T0, após 30 dias T.A e após 30 dias a 45 °C) com formulações que continham o óleo de licuri, estas emulsões também apresentaram comportamento pseudoplástico (SOUSA, 2013).

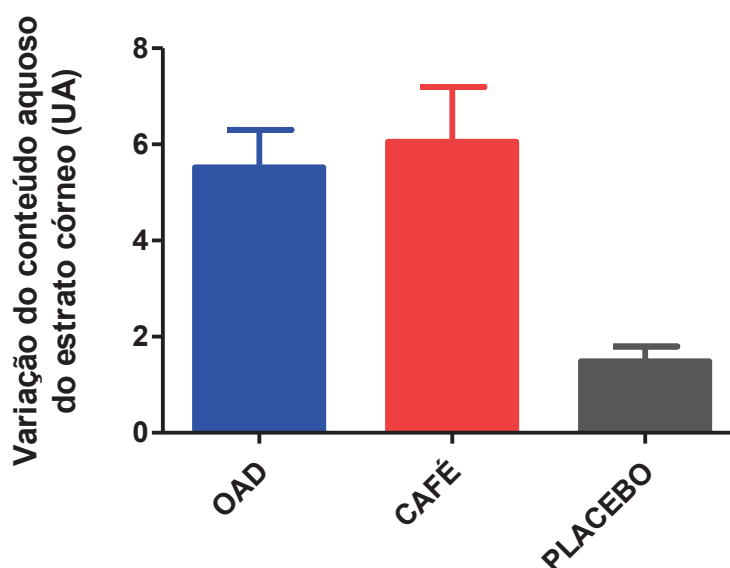
5.7 Avaliação do efeito hidratante das formulações na pele humana

Os resultados obtidos na avaliação dos efeitos hidratantes das formulações após uma única aplicação e após 20 dias foram submetidos à análise estatística para verificar se as alterações observadas com a aplicação das formulações foram estatisticamente significativas e estão demonstradas nas tabelas e figuras a seguir.

Tabela 13 - Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 2 horas de uma única aplicação das formulações estudadas.

TEMPO	REGIÕES AVALIADAS	MÉDIA
Antes	1- veículo	31,29 ± 5,88
	2- veículo + 10% óleo de café	29,37 ± 5,14
	3- veículo + 10% óleo de amêndoas	30,63 ± 5,41
Após 2 horas	1- veículo	32,78 ± 5,88
	2- veículo + 10% óleo de café	35,42 ± 7,53
	3- veículo + 10% óleo de amêndoas	36,15 ± 6,63

Figura 18 - Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 2 horas de uma única aplicação das formulações estudadas.



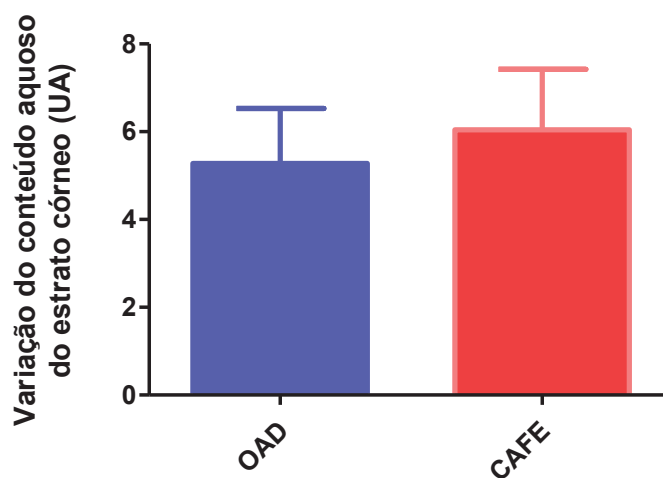
De acordo com os resultados, podemos observar que após 2 horas da aplicação, apenas as formulações acrescidas com 10% de óleo de café e 10% de óleo de

amêndoas doces, aumentou o conteúdo aquoso do estrato córneo significativamente em relação aos valores basais, não havendo diferença estatisticamente significativa entres os perfis de hidratação dessas duas formulações ($p < 0,05$).

Tabela 14 - Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 20 dias de aplicação diária das formulações estudadas

TEMPO	REGIÕES AVALIADAS	MÉDIA
Antes	1- veículo + 10% óleo de café	30,70 ± 4,44
	2- veículo + 10% óleo de amêndoas	29,03 ± 4,84
Após 20 dias	1- veículo + 10% óleo de café	35,08 ± 2,77
	2- veículo + 10% óleo de amêndoas	35,98 ± 5,27

Figura 19 - Conteúdo aquoso do estrato córneo das regiões avaliadas dos antebraços antes e após 20 dias de aplicação diária das formulações estudadas.



Os resultados obtidos na avaliação dos efeitos a longo prazo mostraram que ambas as formulações provocaram um aumento significativo do conteúdo aquoso do estrato córneo após 20 dias de aplicação. E, mais uma vez, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os perfis de hidratação das duas formulações ($p < 0,05$).

Em estudos realizados com o óleo de licuri obtido a partir das amêndoas do Licuri (*Syagrus coronata*), ficou evidente que os resultados obtidos na hidratação cutânea com as formulações que continham óleo de amêndoas doces e óleo de licuri foram semelhantes. De acordo com o teste estatístico realizado no estudo, o ($t_{\text{observado}} < t_{\text{critico}}$), ou seja, não houve diferença estatisticamente significativa entre os óleos, quando o nível de significância foi fixado em 5% (LEAL et al., 2013).

A utilização de óleos vegetais em formulações cosméticas se faz necessário uma vez que são substâncias emolientes capazes de hidratar a pele, e por possuírem substâncias que lhe conferem atividade antioxidante (PEREIRA, 2011).

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. Da mesma forma, avaliar um produto dermocosmético nas reais condições de uso permite a elucidação científica dos seus efeitos na pele a longo prazo (CAMARGO JÚNIOR, 2006).

5.8 Avaliação da liberação e permeação *in vitro* do óleo da borra do café como promotor da permeação cutânea do metronidazol e lapachol

5.8.1 Seleção do meio receptor

A seleção de um meio receptor apropriado é um fator crítico para o sucesso do experimento de liberação de fármacos (SHAH et al., 1994; TABOSA, 2014). A composição do meio receptor deve demonstrar ser capaz de manter a *sink condition* à temperatura de $37 \pm 0,5$ °C, apresentar-se como solução tampão com pH fisiológico (7,4) para fármacos solúveis em água ou ainda meio hidroalcoólico ou meio aquoso com a adição de tensoativo para fármacos lipofílicos (FDA, 1997). Quando a concentração do fármaco dissolvida no meio de liberação é menor que 10% da sua concentração de saturação, diz-se que o sistema está operando sob "*skin condition*" (SINKO, 2008).

A solubilidade determinada para o lapachol em tampão fosfato pH 7,4, solução hidroalcoólica (água:etanol = 50:50), tampão fosfato pH 7,4 com *polioxietileno 20-oleil éter* (Brij 98®) a 4% e água com *polioxietileno 20-oleil éter* (Brij 98®) a 4%, após 24 horas de agitação a temperatura controlada ($37 \pm 2^\circ\text{C}$), foi de 0,371; 0,513; 1,53 e 0,95 mg/mL, respectivamente. Dessa forma, a solução receptora escolhida foi o tampão fosfato pH 7,4 com *polioxietileno 20-oleil éter* (Brij 98®) a 4%, que permitiu a manutenção da “*sink condition*”, não ocasionando aumento apreciável da concentração do lapachol no meio receptor.

A solubilidade determinada para o metronidazol em tampão fosfato pH 7,4, solução hidroalcoólica (água:etanol = 50:50), tampão fosfato pH 7,4 com *polioxietileno 20-oleil éter* (Brij 98®) a 0,5% e a 3,0%, tampão fosfato pH 7,4 com polissorbato 80 (Tween 80®) a 0,5% e água após 24 horas de agitação a temperatura controlada ($32 \pm 2^\circ\text{C}$), foi de 8,90; 14,46; 7,13; 10,13; 8,91 e 11,08 mg/mL, respectivamente. Assim, a solução receptora escolhida foi o tampão fosfato pH 7,4, pois atende às condições sink e se aproxima do pH fisiológico.

5.8.2 Estudo de liberação *in vitro*

Através da observação do perfil de liberação do lapachol e metronidazol *in vitro* (Figuras 20 e 21) respectivamente, é possível verificar que não houve diferença estatisticamente significativa no intervalo de 95% de confiança na difusão do fármaco a partir das formulações que contém óleo da borra do café, em relação à formulação sem óleo.

Sabendo que a viscosidade de uma formulação é um dos principais fatores que influenciam na penetração cutânea de fármacos (LIRA, 2003; WANG et al., 2001) e que não existem diferenças significativas na viscosidade destas formulações, o estudo *in vitro* com membrana artificial isoladamente, não é capaz de diferenciar a liberação de ambos os fármacos, em virtude de modificações sucintas nas formulações. A membrana, neste caso, age apenas como uma simples barreira utilizada para separar o meio doador do receptor.

Por este motivo trata-se de uma ferramenta utilizada apenas no controle de qualidade de formas farmacêuticas de aplicação tópica.

Na Tabela 15 também se observa que após a realização da regressão linear da concentração liberada em função do tempo, os valores dos coeficientes de correlação

apresentam-se mais próximos de 1, demonstrando que as formulações que contém lapachol seguem o modelo cinético de ordem zero, ou seja, o fluxo independe da concentração do fármaco (SILVA et al., 2009; CARVALHO, 2012; SOUSA, 2013).

Figura 20 - Perfil de liberação *in vitro* das formulações de lapachol estudadas usando membrana artificial (n=6)

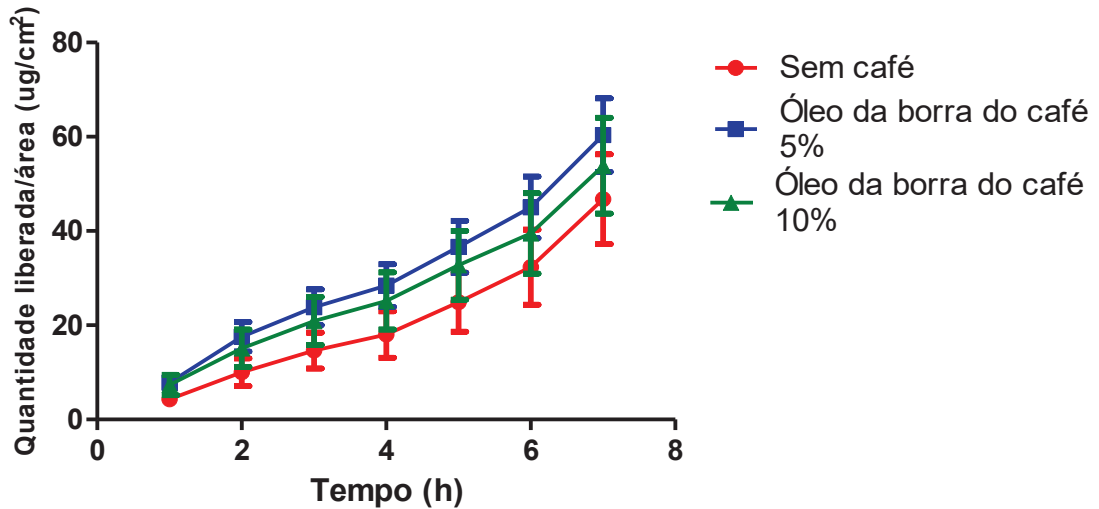


Figura 21 - Perfil de liberação *in vitro* das formulações de metronidazol estudadas usando membrana artificial (n=6)

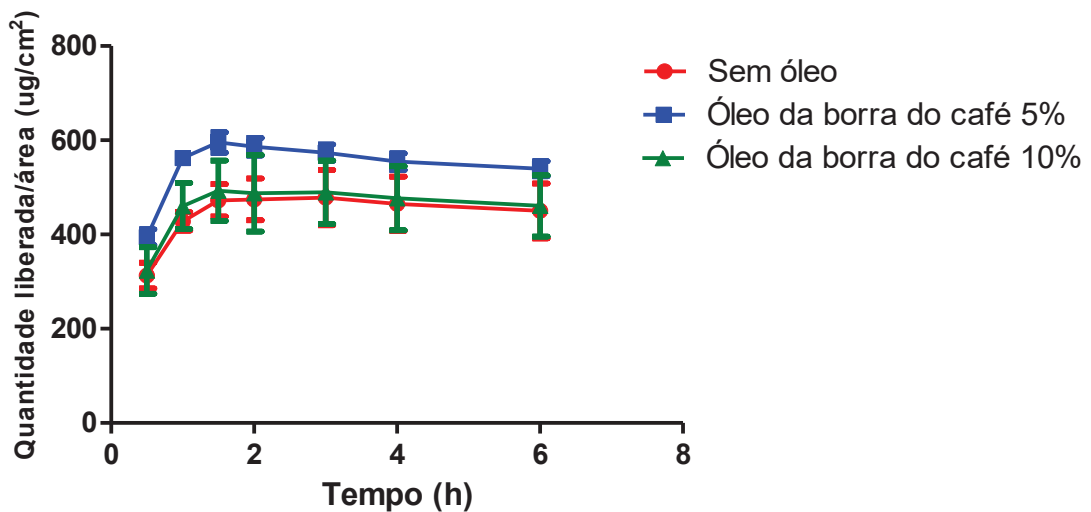


Tabela 15 - Valores médios de quantidade liberada, taxa de liberação e coeficiente de determinação para as diferentes formulações contendo lapachol usando membrana artificial.

Formulação	Quantidade liberada após 6h (μg)	Taxa de liberação ($\mu/\text{cm}^2/\text{h}$)	Modelo cinético	Coefficiente de determinação (r^2)
F1 – Sem óleo	71,99 \pm 7,72	6,38 \pm 0,48	Ordem zero	0,9948
F2 – 5% óleo da borra do café	73,01 \pm 15,43	8,63 \pm 0,89	Ordem zero	0,9852
F3 – 10% óleo da borra do café	107,12 \pm 10,33	9,33 \pm 0,76	Ordem zero	0,9802

5.8.3 Estudo de permeação *in vitro*

Para a avaliação da permeação *in vitro* do fármaco, foi escolhida como biomembrana a pele da região dorsal de cobra *Boa constrictor*. A utilização de pele de cobra vem ganhando espaço como alternativa a pele humana nos estudos de promotores de penetração cutânea. A muda de pele de cobra é constituída apenas de estrato córneo, com características próximas ao estrato córneo humano credenciando a pele deste animal como modelo alternativo de estrato córneo (BABY et al., 2008; SOUSA, 2013).

Os resultados do estudo de permeação do lapachol *in vitro* (Figura 22), foi possível demonstrar que houve diferença estatisticamente significativa na difusão do fármaco a partir da formulação que contém o óleo da borra do café a 10% quando comparada a formulação sem óleo e entre a formulação que contém óleo da borra do café a 5% e 10%. Enquanto que, não houve diferença estatisticamente significativa na difusão do fármaco a partir da formulação sem óleo quando comparada a formulação a 5%.

Na observação do perfil de permeação do metronidazol *in vitro* (Figura 23), é possível verificar que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na difusão deste fármaco a partir da formulação que contém o óleo da borra do café a 10% quando comparada a formulação sem óleo e entre a formulação que contém óleo da borra do café a 5% e 10%. Porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre a formulação com óleo da borra do café a 5% e a formulação sem óleo.

De acordo com os resultados obtidos no estudo de permeação, foi perceptível que não só a presença, mas o aumento da concentração do óleo na formulação, promoveram o aumento da quantidade de fármaco no compartimento receptor.

Entretanto, as formulações que continham lapachol apresentaram maior quantidade percentual permeada, fluxo e coeficiente de permeabilidade, quando comparadas as formulações que continham metronidazol. Isso pode ser explicado pelo fato do lapachol ser um fármaco altamente lipofílico, com log P 2,69, permeando mais facilmente o estrato córneo. Enquanto que o metronidazol é altamente hidrofílico com Log P -0,020.

Alguns estudos demonstram que o aumento da lipofilicidade promove um aumento da permeação cutânea, sendo ideal a existência de um log P entre 2 e 3. Substâncias ativas com esses valores conseguem uma partição em ambiente mais e menos apolar. Fármacos com elevado Log P não têm a capacidade de deixar a barreira lipídica da pele (estrato córneo); e fármacos com baixo Log P não possuem capacidade de permeação (BENSON; WATKINSON, 2012; SHARMA, et al., 2011).

Substâncias ativas hidrofílicas ou com carga penetram com mais dificuldade o estrato córneo, devido à natureza lipídica e ao baixo teor de água deste. Por esta razão, o transporte de substâncias ativas lipofílicas é facilitado, devido à sua dissolução nos lípidios intercelulares do estrato córneo (MEHTA, 2004; STAHL et al., 2011).

Uma ampla gama de ésteres associados aos seus ácidos gordos, têm sido utilizados como promotores de permeação transdérmica. Ao longo de vários estudos, verificou-se que os ácidos graxos insaturados são mais eficazes na promoção da absorção percutânea de fármacos, em relação aos seus homólogos saturados. Entre eles, tem-se o ácido oleico que permite um aumento da difusão dos permeantes da pele, devido à desordem lipídica causada no estrato córneo (MARTINS; VEIGA, 2002; LANE, 2013; RAFEIRO, 2013).

A adição de ácido oleico a um sistema de co-solventes etanol:água (50:50) promoveu marcadamente a permeação de zalcitabina, didanosina e zidovudina através da pele (MARTINS; VEIGA, 2002; SILVA, 2012).

O ácido oleico também aumentou consideravelmente o coeficiente de permeação da melatonina através da pele, quando comparado ao obtido com o propilenoglicol usado somente como veículo. Dessa forma, demonstrou-se que o ácido oleico utilizado é um veículo adequado e um promotor de permeação da melatonina mais

eficaz do que o etanol, propilenoglicol, polietilínoglicol e suas misturas binárias (MARTINS; VEIGA, 2002; SILVA, 2012).

A partir dos ensaios de caracterização físico-química do óleo da borra do café, foi possível verificar que este é constituído de ácidos graxos saturados e insaturados, entre eles, encontra-se o ácido oleico (cerca de 13,09%). Desta forma, podemos justificar o aumento da permeabilidade dos fármacos estudados quando esse óleo é incorporado na formulação.

Podemos observar nas Tabelas 16 e 17 que as formulações que contêm o óleo da borra do café apresentaram maior quantidade permeada, fluxo e coeficiente de permeabilidade do que a formulação sem óleo.

Figura 22 - Perfil de permeação cutânea *in vitro* das formulações de lapachol estudadas usando biomembrana (n=6)

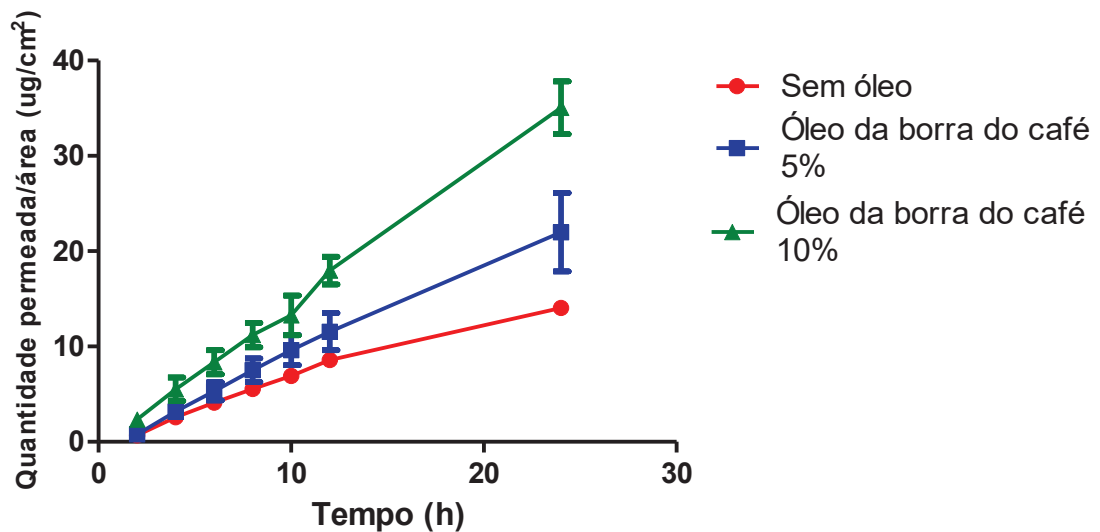


Figura 23 - Perfil de permeação cutânea *in vitro* das formulações de metronidazol estudadas usando biomembrana (n=6)

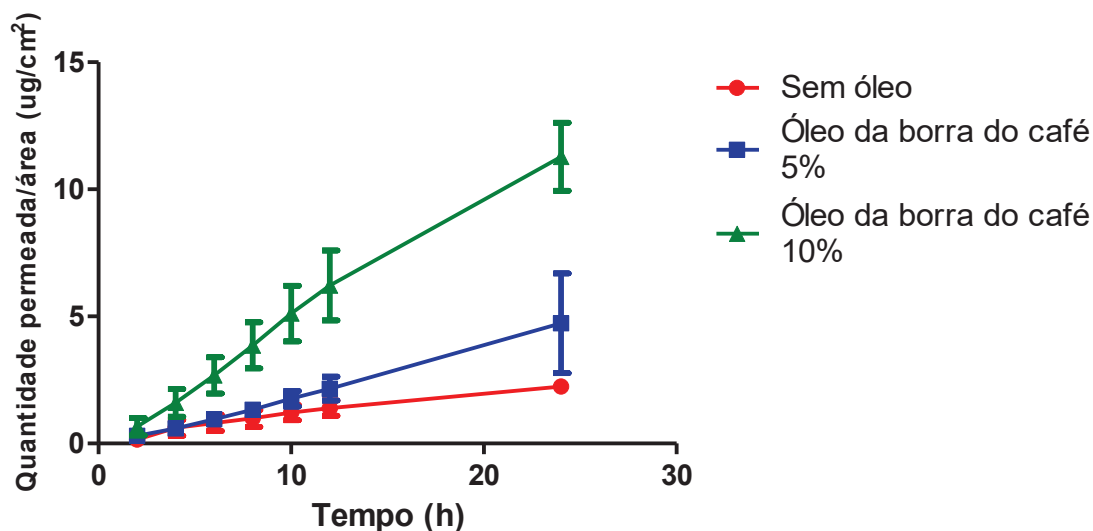


Tabela 16 - Valores médios de quantidade liberada, fluxo e coeficiente de permeabilidade para as diferentes formulações contendo lapachol após 24 horas usando biomembrana.

Formulação	Quantidade permeada após 24h (μ)	Fluxo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	Coefficiente de permeabilidade ($\text{cm} \times 10^{-4}/\text{h}$)
F1 – Sem óleo	24,84 \pm 0,69	0,54 \pm 0,01	1,08 \pm 0,03
F2 – 5% óleo da borra do café	38,93 \pm 2,63	0,95 \pm 0,18	1,91 \pm 0,36
F3 – 10% óleo da borra do café	62,04 \pm 5,20	1,49 \pm 0,17	3,00 \pm 0,34

Tabela 17 - Valores médios de quantidade liberada, fluxo e coeficiente de permeabilidade para as diferentes formulações contendo metronidazol após 24 horas usando biomembrana.

Formulação	Quantidade permeada após 24h (μ)	Fluxo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	Coefficiente de permeabilidade ($\text{cm} \times 10^{-4}/\text{h}$)
F1 – Sem óleo	3,95 \pm 0,43	0,11 \pm 0,06	0,157 \pm 0,08
F2 – 5% óleo da borra do café	16,43 \pm 2,97	0,27 \pm 0,15	0,370 \pm 0,20
F3 – 10% óleo da borra do café	21,08 \pm 0,95	0,49 \pm 0,02	0,664 \pm 0,03

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

As análises realizadas mostraram que o óleo da borra do café apresentou-se dentro das especificações para índice de acidez e iodo. Porém, um pouco abaixo destas para o índice de saponificação. E, embora este óleo seja proveniente de um material de descarte (resíduo doméstico, comercial e industrial), o mesmo apresenta características que o torna potencial adjuvante dermocosmético e de direta aplicação na indústria.

A partir do CG/MS obtivemos que os ácidos graxos em maior porcentagem são: ácido linoleico, seguido do palmítico, oleico, esteárico e araquídico, podendo assim justificar o aumento na permeabilidade e hidratação cutânea. Pela análise das fotografias, concluiu-se que o EHL crítico do óleo da borra do café é de 11,79.

Além disso, a formulação 3 foi a que demonstrou maior estabilidade diante dos parâmetros analisados, pois esta foi a que melhor manteve suas características iniciais durante todo o tempo do estudo e diferentes condições de análise, evidenciando características desejáveis para os cosméticos como a pseudoplasticidade.

O óleo da borra do café, nas concentrações utilizadas, contribuiu significativamente para o aumento na quantidade de lapachol e metronidazol permeado. Sendo assim, o óleo da borra do café apresentou-se como um bom candidato a promotor de absorção cutânea de fármacos.

Conforme os resultados obtidos, as formulações que continham óleo de café e amêndoas doces proporcionaram um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo, tanto após uma única aplicação quanto em uso prolongado, quando comparado com os valores basais. Sendo assim, o óleo da borra do café pode ser considerado um adjuvante lipofílico com função hidratante, sinalizando mais um óleo com aplicabilidade cosmética para a cadeia produtiva de produtos naturais e desenvolvimento sustentável.

PERSPECTIVAS

7 PERSPECTIVAS

- Solicitar patente relacionada ao uso do óleo da borra do café como promotor de permeação de fármacos hidrofílicos e lipofílicos e sua ação hidratante;
- Realizar novos testes de permeação com o óleo da borra do café utilizando outros fármacos;
- Realizar estudos de permeação substituindo o óleo da borra do café pelo ácido oleico no mesmo percentual encontrado no referido óleo, visando avaliar a ação sinérgica dos demais ácidos graxos encontrados no óleo;
- Publicar um artigo científico.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABIC. Associação Brasileira da Indústria de Café. **Indicadores da indústria de café no Brasil - 2013**. Disponível em <
<http://www.abic.com.br/publicue/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=3252&sid=61&tpl=printerview>>. Acesso em: 10 dez. 2015.

ADAMS, M. R.; DOUGAN, J. Waste products In: CLARKE, R. J. & MACRAE, R. **Coffee: Technology**. 2ª ed. Londres: Elsevier Applied Science, p. 282-291, 1985.

ALMEIDA, I. F.; BAHIA, M. F. Reologia: interesse e aplicações na área cosmético-farmacêutica. **Cosmetics & Toiletries**, v. 15, n. 3, p. 96-100, 2003.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR, L. V. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. São Paulo: Premier, p. 288-291, 2000.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR, L. V. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 776p.

ANTONIO, M. E. C. O. **Permeação cutânea *in vitro* como ferramenta auxiliar para o estudo de formulações semi-sólidas de cetoconazol para aplicações tópicas**. 2007. 147f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2007.

ARAUJO, T. P. **Bioequivalência tópica de produtos contendo metronidazol através da dermatofarmacocinética (DPK)**. 2016. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2016.

AULTON, M. E. **Pré-formulação farmacêutica: delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677p.

BABY, A. R.; HAROUTIOUNIAN-FILHO, C. A.; SARRUF, F. D. et al. Estabilidade e estudo de penetração cutânea *in vitro* da rutina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, p. 233-248, 2008.

BARATA, E. A. F. **Cosméticos - Arte e Ciência**. Lisboa: Lidel, 2002.

BARBIROLI, G. Transformation of fatty substances in coffee during industrial roasting. **Quad. Merceol**, v. 5, p. 223-35, 1966.

BAUMANN, L. **Dermatologia cosmética: princípios e prática**. Rio de Janeiro: Revinter, 2004.

BECHER, P. **Emulsiones - teoría y práctica**. Madrid: Blume, 1972.

BENSON, H. A. E.; WATKINSON, A. C. **Topical and transdermal drug delivery: principles and practice**. John Wiley & Sons, 2012.

BONTÉ, F. Skin moisturization mechanisms: New data. **Annales pharmaceutiques françaises**, v. 69, n. 3, p. 135-141, 2011.

BOOCK, K. P. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões contendo cristais líquidos e ativos hidratantes à base de manteiga de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) ou cacau (*Theobroma cacao*)**. 2007. 112f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2007.

BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 4, 2006.

BRASIL. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília: ANVISA. RE n. 899 de 29 de Maio de 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência-Geral de Cosméticos. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília: Séries Temáticas, 2004. 52p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência-Geral de Cosméticos. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. Brasília, 2007.

BRITO, M. B.; BARIN, G. B.; ARAÚJO, A. A. S. et al. The action modes of *Lippia sidoides* (CHAM) essential oil as penetration enhancers on snake skin. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 1, p. 323-327, 2009.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Espanha: Acribia S.A., 1991.

CABRAL, M. S.; MORIS, V. A. S. **Reaproveitamento da borra de café como medida de minimização da geração de resíduos**. In: Encontro Nacional de Engenharia de Produção. São Carlos. Resumo expandido. São Paulo, 2010.

CAMARGO JÚNIOR, F. B. **Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo pantenol e avaliação dos seus efeitos hidratantes na pele humana por bioengenharia cutânea**. 2006. 152f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2006.

CARNEIRO, P. I. B.; REDA, S. Y.; CARNEIRO, E. B. B. ¹H NMR characterization of seed oils from Rangpur Lime (*Citrus limonia*) and "Sicilian" Lemon (*Citrus limon*). **Annals of Magnetic Resonance**. v. 4, p. 64-68, 2005.

CARVALHO, A. L. M. **Avaliação biofarmacotécnica de microemulsões de zidovudina para uso transdérmico**. 2012. 138f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2012.

CARVALHO, A. L. M. **Cinética de difusão *in vitro* e atividade *in vivo* de preparações magistrais de cetoprofeno**. 2007. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2007.

CATHERINE, M.; ZIP, M. D. Innovative use of topical metronidazole. **Dermatology Clin**, v. 28, p. 525-534, 2010.

CAUSSIN, J.; ROZEMA, E.; GOORIS, G. S.; WIECHERS, J. W.; PAVEL, S.; BOUWSTRA, J. A. Hydrophilic and lipophilic moisturizers have similar penetration profiles but different effects on SC water distribution in vivo. **Experimental Dermatology**, v. 18, n. 11, p. 954-961, 2009.

CAVALCANTI, M. T.; BORA, P. S.; CARVAJAL, J. C. L.; FLORENTINO, E. R.; SILVA, F. L. H. Análise térmica e perfil de ácidos graxos do óleo das amêndoas de faveleira (*Cnidoculus phyllacanthus* Pax. & K. Hoffm) com e sem espinho. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 4, p. 154-162, 2012.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2^a ed. Campinas: Unicamp, 2003.

CHANAKYA, H. N.; ALWIS, A. A. P. **Environmental issues and management in primary coffee processing**. Process safety and environmental protection, v. 82, p. 291-300, 2004.

CHIEN, Y. W. **Novel drug delivery systems**. 2ª ed. New York: Marcel Dekker, 2005.

CHIQUEIRI, A.; DI MAIO, F. R.; PEIXOTO, A. L. A distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss. na *Flora Brasiliensis* de Martius. **Rodriguésia**, v. 55, n. 84, p. 47-57, 2004.

CHORILLI, M.; BRIZANTE, A. B.; RODRIGUES, C. A.; SALGADO, H. R. N. Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 1, p. 7-13, 2007.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G. R.; OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V. **Lipossomas em formulações dermocosméticas**. Infarma, v. 16, p. 73-77, 2004.

COELHO, L. C. S. **Protetor solar: desenvolvimento farmacotécnico e avaliação da eficácia e segurança**. 2005. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2005.

CORRÊA, N. M.; CARVALHO JÚNIOR, F. B.; IGNÁCIO, R. F.; LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 41, p. 73-78, 2005.

CORTE, T. W. F. **Desenvolvimento e avaliação da eficácia de emulsões cosméticas para xerose senil**. 2006. 138f. Tese (Doutorado em Gerontologia Biomédica) - Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2006.

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 research and technology**, v. 12, p. 241-246, 2006.

DAMASCENO, G. A. B. **Obtenção de extratos da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e suas aplicações em formulações cosméticas: avaliação *in vivo* do sensorial e da eficácia hidratante**. 2014. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2014.

DANTAS, H. J. **Estudo termoanalítico cinético e reológico de biodiesel derivado do óleo de algodão (*Gossypium hisutum*)**. 2006. 86f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2006.

DEDEREN, J. C.; CHAVAN, B.; RAWLINGS, A. V. Emollients are more than sensory ingredients: the case of isostearyl isostearate. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 34, n. 6, p. 502-510, 2012.

DRAELOS, Z. D. **Cosmecêuticos**, 2ª triagem. Rio de Janeiro: Elsevier, p 31-41, 2005.

ELSAYED, M. M. A.; ABDALLAH, O. Y.; NAGGAR, V. F.; KHALAFALLAH, N. M. Deformable liposomes and ethosomes: mechanism of enhanced skin delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 322, p. 60-66, 2006.

EPIFANO, F.; GENOVESE, S.; FIORITO, S.; MATHIEU, V.; KISS, R. Lapachol and its congeners as anticancer agents: a review. **Phytochem Rev.**, 2013.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. Parte I. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

FDA - Guidance for industry: **SUPAC-SS** Nonsterile semisolid dosage forms; scale-up and postapproval changes: chemistry, manufacturing and controls; *in vitro* release testing and *in vivo* bioequivalence documentation, 1997.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja - Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, v. 28, p. 19-23, 2005.

FERREIRA, Anderson de Oliveira. **Guia prático da farmácia magistral**: volume 13. Ed. São Paulo: Pharmabooks, 2008. 409p.

FONSECA, H.; GUTIERREZ, L. E. Estudo do teor e composição do óleo de algumas variedades de café (*Coffea arabica* L.). **An. Esc. Super. Agric. Luiz de Queiroz**, Piracicaba. vol. 28 , p. 313-322, 1971.

FONSECA, S. G. C. **Desenvolvimento farmacotécnico de forma farmacêutica microparticulada contendo lapachol e avaliação comparativa da atividade antineoplásica sobre o Sarcoma de Yoshida frente a forma clássica**. 2001. 180 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2001.

FONSECA, S. G. C.; SILVA, L. B. L.; CASTRO, R. S.; SANTANA, D. P. Validação de metodologia analítica para doseamento de lapachol por CLAE. **Química Nova**. v. 27, n. 1, p. 157-159, 2004.

FRIEBERG, S. E.; HILTON, M. L.; GOLDSMITH, L. B. Emulsions are not only two liquids. **Cosmetics & Toiletries**, v. 102, n. 2, p. 87-98, 1987.

GARCIA, C. C.; FRANCO, P. I. B. M.; ZUPPA, T. O.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; LELES, M. I. G. Thermal stability studies of some cerrado plant oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 87, n. 3, p. 645-648, 2007.

GIANETI, M. D. **Estabilidade e eficácia clínica de formulações dermocosméticas contendo filtros solares, vitaminas lipossolúveis e extratos de *Ginkgo biloba* e algas marinhas vermelhas**. 2013. 217f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2013.

GIRARD, P.; BERAUD, A.; SIRVENT, A. Study of three complementary techniques for measuring cutaneous hydration *in vivo* in human subjects: NMR spectroscopy, transient thermal transfer and corneometry - application to xerotic skin and cosmetics. **Skin Res Technol**, v. 6, n. 4, p. 205-213, 2000.

GONÇALVES, R. A. **Desenvolvimento e avaliação *in vitro* de emulsões contendo óleo de canola e ácidos carboxílicos**. 2000. 169f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2000.

HANSCH, C.; LEO, A. J.; HOEKMAN, D. **Exploring QSAR: hydrophobic, electronic and steric constants**. Washington: ACS, 1995b. 348p.

HARDING, C. R.; WATKINSON, A.; RAWLINGS, A. V. Dry skin, moisturization and corneodesmolysis. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 22, p. 1-21, 2000.

HARRIS, M. I. N. C. **Pele: Estrutura, propriedade e envelhecimento**. São Paulo: Senac, 2003. 165p.

HARRIS, M. I. N. C. **Pele: Estrutura, propriedades e envelhecimento**. 2ª ed. São Paulo: Senac, 2005. 165p.

HARRIS, M. I. N. C. **Pele: Estrutura, propriedades e envelhecimento**. 3ª ed. São Paulo: Senac, p. 273-291, 2009.

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMAD, V. U.; MIANA, G. A.; GREEN, I. R. Lapachol: an overview. **Arkivoc**, v. 1, n. 2, p.145-171, 2007.

ILLY, E. Um dos prazeres simples da vida é complicado: A saborosa complexidade do café. **Revista Scientific American Brasil**, p. 48-53, 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 3ª ed. São Paulo, v. 1, 1985. 533p.

ISSA, M. G. **Avaliação do impacto de diferentes variáveis no ensaio de dissolução intrínseca de metronidazol**. 2011. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo. 2011.

JENNINGS, W.; MITTFELDELT, E.; STREMPLE, P. **Analytical Gas Chromatography**. 2ª ed. New York: Academic Press, 1997.

KAUFMANN, H. P.; HAMSAGAR, R. S. Component lipids of the coffee bean. **Fette Seifen Anstrichmittel**. v. 64, p. 206-213, 1962.

KEDE, M. P. V.; SABATOVICH, O. **Dermatologia estética**. São Paulo: Atheneu, 2003. 771p.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* Lam. DC. *Compositae*. (Marcela)**. 1991. 228f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 1991.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 2, p. 855-905, 2001.

LAMP, K. C.; FREEMAN, S. D.; KLUTMAN, N. E.; LACY, M. K. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the nitroimidazole antimicrobials. **Clin Pharmacokinet**, v. 36, n. 5, p. 353-373, 1999.

LANE, M. E. Promotores da permeação da pele. **Jornal Internacional dos Farmacêuticos**. Londres, p. 12-21, 2013.

LEAL, L. B.; SOUSA, G. D.; SEIXAS, K. B.; SOUZA, P. H. N.; SANTANA, D. P. Determination of the critical hydrophile-lipophile balance of licuri oil from *Syagrus coronata*: application for topical emulsions and evaluation of its hydrating function. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 1, jan./mar., 2013.

LEITE, C. L. **Aceitação e preferência por cafés submetidos a diferentes métodos de extração de cafeína**. 2009. 121f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

LEONARDI, G. R. **Cosmetologia aplicada**. São Paulo: Medfarma, p. 234, 2004.

LEONARDI, G. R. **Cosmetologia aplicada**. 2ª ed. São Paulo: Santa Isabel, 2008.

LEONARDI, G. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Estabilidade de formulações cosméticas. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 3, p. 154-156, 2001.

LEONARDI, G. R.; GASPAR L. R.; MAIA CAMPOS P. M. B. G. Application of a noninvasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. **Journal of Cosmetic Science**, v. 53, n. 5, p. 263–268, 2002.

LIMA, C. R. R. C. **Identificação de ácidos graxos presentes no óleo de castanha do Brasil em emulsões cosméticas**. 2010. 127f. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2010.

LIRA, A. A. M. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação de sistemas microestruturados para veiculação de ácido retinóico na pele**. 2007. 142f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2007.

LIRA, A. A. M. **Estudo de permeação *in vitro* e avaliação térmica de emulgel tópico a base de lapachol**. 2003. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2003.

LOCHHEAD, R. Y. Emulsions. **Cosmetics & Toiletries**, v. 109, p. 93-109, 1994.

LUZ, J. A. M.; LIMA, R. M. F. Análise granulométrica por técnicas que se baseiam na sedimentação gravitacional: regime turbulento e intermediário. **Rem: Revista Escola de Minas**, Ouro Preto, v. 54, n. 3, p. 215-218, 2001.

MACHADO, A. C. H. R. **Desenvolvimento e avaliação da incorporação e liberação de óleo de açaí em hidrogéis de poli (*n*-vinil-2-pirrolidona)**. 2010. 125f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2010.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; GIANETI, M. D. Bases físicas e químicas dos cosmeceuticos. **Tratado Internacional de Cosmeceuticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda, v. 1, p. 68-75, 2012.

MALACRIDA, C. R. Alterações do óleo de soja e da mistura azeite de dendê - óleo de soja em frituras descontínuas de batatas chips. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, n. 2, p. 245-249, 2003.

MARTIN, A. **Physical Pharmacy**. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 153-476, 1993.

MARTINS, M. R. F. M.; VEIGA, F. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: nova aplicação para as ciclodextrinas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 33-57, 2002.

MASMOUDI, H.; LE DRÉAU, Y.; PICCERELLE, P.; KISTER, J. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 289, p. 117-131, 2005.

MASSON, D. S. et al. Polyhydroxy alcohols and peach oil addition influence on liquid crystal formation and rheological behaviour of O/W emulsions. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, p. 463-468, 2005.

MATOS, L. J. B. L.; COSTA, E.; LIMA, L. P.; FERNANDES, F. A. N. **Estudo comparativo da extração do óleo da borra de café**. Ceará, 2010. Disponível em <http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNEPI2010/paper/viewFile/1470/583>. Acesso em: 8 dez. 2015.

MEHTA, R. Topical and transdermal drug delivery: what a pharmacist needs to know. **Inet continuing education, InetCE. com**, p. 1-10, 2004.

MELO, E. K. S. **Caracterização e estudos de liberação e permeação cutânea *in vitro* de preparações tópicas do cidofovir**. 2012. 122f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2012.

MILAN, A. L. K. **Espectroscopia de infravermelho na avaliação da hidratação cutânea de idosas pelo uso tópico de nicotinamida**. 2006. 83f. Dissertação (Mestrado em Gerontologia Biomédica) - Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2006.

MITLAG, M.; ARNEJO, N. A.; CARBALLO, O. P.; BLANCO, A. F. Emolientes lipofílicos: predição de funcionalidade através de parâmetros físicos. **Cosmetics & Toiletries**, edição em português, v. 4, n. 2, p. 45-50, 1992.

MONCRIEFF, G.; CORK, M.; LAWTON, S.; KOKIET, S.; DALY, C.; CLARK, C. Use of emollients in dry-skin conditions: consensus statement. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 38, n. 3, p. 231-238, 2013.

MONTEIRO, E. O. Filtros solares e fotoproteção. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 67, n. esp. 6, 2010.

MORAIS, G. G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões o/a com cristais líquidos acrescidas de xantinas para o tratamento da hidrolipodistrofiaginóide (celulite)**. 2006. 181f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, Ribeirão Preto. 2006.

MORAIS, G. G.; SANTOS, O. D. H.; MASSON, D. S.; OLIVEIRA, W. P.; ROCHA FILHO, P. A. Development of o/w emulsions with annatto oil (*Bixa orellana*) containing liquid crystal. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 26, n. 5, p. 591-596, 2005.

MORETTO, E.; FETT, R. **Definição de óleos e gorduras: tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998, 144p.

NETZ, P. A.; ORTEGA, G. G. **Fundamentos da físico-química: uma abordagem conceitual para as ciências farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 299p.

NUNES, A. A. **Óleo da polpa de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq) Lood. ex Mart.) com alta qualidade: processo de refino e termoestabilidade**. 2013. 149f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande. 2013.

NUNES, R. S.; AZEVEDO, J. R.; VASCONCELOS, A. P.; PEREIRA, N. L. Estudo de padronização da pele de cobra espécie - *Boa constrictor* - como modelo de estrato córneo para permeação de fármacos. **Scientia Plena**. v. 1, n. 7. p. 171-175, 2005.

OLIVEIRA, A. Z. M. **Desenvolvimento de formulações cosméticas com ácido hialurônico**. 2009. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Porto, Porto. 2009.

OLIVEIRA, P. P.; COSTA, A. C.; LIMA, W. L. Utilização da borra de café na produção de mudas de chicória. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, nov 2014.

OLIVEIRA, R. V. M.; OHARA, M. T.; VILA, M. M. D. C.; GONCALVES, M. M. *In vitro* evaluation of copaiba oil as a kojic acid skin enhancer. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 46, n. 2, p. 363-370, 2010.

OSSOWSKI, T.; GOULART, M. O. F.; DE ABREU, F. C.; SANTANA, A. E. G.; MIRANDA, P. R. B.; COSTA, C. O.; LIWO, A.; FALKOWSKI, P.; ZARZECZANSKA, D. Determination of the pKa values of some biologically active and inactive hydroxyquinones. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, p. 175-183, 2008.

PANDEY, C. R.; SOCCOL, P.; NIGAM, D.; BRAND, R.; MOHAN, S. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, v. 6, p. 153-162, 2000.

PEYREFITTE, G.; MARTINI, M.; CHIVOT, M. **Cosmetologia, biologia geral, biologia da pele**. São Paulo: Organização Andrei, 1998.

PENAFORT, A. G. **Padrão de consumo de café e de cafeína de um grupo populacional no nordeste brasileiro: risco à saúde ou não?**. 2008. 119f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza. 2008.

PEREIRA, N. P.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Composição química do óleo fixo obtido dos frutos secos da *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert produzida no município de Mandirituba, PR. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, n. 4, p. 334-337, 2005.

PEREIRA, T. A. **Obtenção e caracterização de nanoemulsões O/A a base de óleo de framboesa (*Rubus idaeus*), maracujá (*Passiflora edulis*) e pêssego (*Prunus pérsica*): avaliação das propriedades hidratantes da formulação**. 2011. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2011.

PIANOVSKI, A. R.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S.; LIMA, C. G.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 249-259, 2008.

PISANO, D. E.; ELLIOTT, A. J.; HINMAN, D. R.; AARONSON, L. M.; PARDINI, R. S. Relationship between inhibition of mitochondrial respiration by naphtoquinones, their antitumor activity, and their redox potential. **Biochemical Pharmacology**, v. 35, n. 21, p. 3791-3798, 1986.

PRASCH, T. H.; KNUBEL, G.; SCHIMIDT-FONK, K. Infrared spectroscopy of the skin: influencing the stratum corneum with cosmetics products. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 22, p. 371-383, 2000.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 4ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, p. 169-170, 1992.

RAFEIRO, D. F. B. **Novas estratégias de promoção da permeação transdérmica**. 2013. 44f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona, Lisboa. 2013.

RAMALHO, J. B. V. S.; OLIVEIRA, M. C. K. Metodologia para determinação da distribuição do diâmetro de gotas em emulsões de petróleo do tipo água-óleo por difração a laser. **Bol. Téc. PETROBRAS**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 1/4, p. 72-76, 1999.

RAMPAZZO, V. **Avaliação da degradação térmica de óleos vegetais por termogravimetria, cromatografia gasosa e espectroscopia de infravermelho médio**. 2015. 94f. Dissertação (Mestrado em Engenharia dos Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2015.

RATHINAVELU, R.; GRAZIOSI, G. Posibles usos alternativos de los residuos y subproductos del café. **Organización Internacional Del Café**, 2005.

RAWLINGS, A. V.; BIELFELDT, S.; LOMBARD, K. J. A review of the effects of moisturizers on the appearance of scars and striae. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 34, n. 6, p. 519-524, 2012.

REDA, S. Y. **Estudo comparativo de óleos vegetais submetidos a estresse térmico**. 2004. 153f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa. 2004.

RIBEIRO, C. **Cosmetologia aplicada a dermoestética**. 2^a ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. 2004. 194p.

ROBERTS, M. S.; BOUWSTRA, J.; PIROT, F.; FALSON, F. **Skin Hydration** - a key determinant in topical absorption. USA: Informa Healthcare, p.115-128, 2008.

SALES, O. D. **Manual de Cosmetologia**. Editorial Video Cinco Multimedia, 1998.

SANTIS, A. K. **Formas farmacêuticas semi-sólidas de uso tópico contendo nifedipina: desenvolvimento galênico e avaliação biofarmacotécnica**. 2008. 156f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, universidade federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2008.

SHAH, V. P.; ELKINS, J. S.; WILLIAMS, R. L. Evaluation of the test system used for *in vitro* release of drugs for topical dermatological drug products. **Pharmaceutical Development and Technology**, p. 377-385, 1994.

SHALAEVA, M.; KENSETH, J.; LOMBARDO, F.; BASTIN, A. Measurement of dissociation constants (pKa values) of organic compounds by multiplexed capillary electrophoresis using aqueous and cosolvent buffers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 7, p. 2581-2606, 2008.

SHARMA, N.; AGARWAL, G.; RANA, A. C.; BHAT, Z. A.; KUMAR, D. A review: transdermal drug delivery system: a tool for novel drug delivery system. **International Journal of Drug Development and Research**, 2011.

SILVA, A. E. S. **Identificação e quantificação via técnicas cromatográficas de ácidos graxos com potencial farmacológico em frutos amazônicos**. 2012. 79f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012.

SILVA, A. T. A. **Síntese de pró-fármacos derivados de metronidazol**. 2002. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara. 2002.

SILVA, J. A.; APOLINÁRIO, A. C.; SOUZA, M. S. R.; DAMASCENO, B. P. G. L.; MEDEIROS, A. C. D. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31. n. 3, p. 125-131, 2010.

SILVA, J. A.; SANTANA, D. P.; BEDOR, D. G. C.; BORBA, V. F. C.; LIRA, A. A. M.; EGITO, E. S. T. Estudo de liberação e permeação *in vitro* do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1389-1393, 2009.

SILVA, L. L. **Análise fitoquímica e determinação das atividades antioxidantes e vasculogênica dos extratos aquosos padronizados de *Coffea arabica* e *Theobroma cacao***. 2005. 161f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2005.

SILVA, M. V. **Determinação do EHL crítico de óleo de babaçu, avaliação da função hidratante e aplicação em emulsões tópicas como novo adjuvante lipofílico**. 1997. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 1997.

SINKO, P. J. M. **Física farmacêutica e ciências farmacêuticas**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

SINTOV, A. C.; BOTNER, S. Transdermal drug delivery using microemulsion and aqueous systems: Influence of skin storage conditions on the *in vitro* permeability of diclofenac from aqueous vehicle systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 311, p. 55-62, 2006.

SORIANO, M. M. J.; CONTREARAS, M. J. F.; FLORES, E. S. Development of a cream from a self-emulsifying base and moisturizing actives. **II Farmaco**, v. 56, n. 5-7, p. 513-522, jul 2001.

SOUSA, G. D. **Óleo de licuri: desenvolvimento de emulsões, avaliação do potencial de promoção da permeação cutânea e estudo clínico para avaliação de seus efeitos hidratantes na pele humana**. 2013. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2013.

STAHL, J.; WOHLERT, M.; KIETZMANN, M. The effect of formulation vehicles on the *in vitro* percutaneous permeation of ibuprofen. **BMC Pharmacology**, v. 11, n. 1, p. 12, 2011.

STAMATAS, G. N.; DE STERKE, J.; HAUSER, M.; VON STETTEN, O.; VAN DER POL, A. Lipid uptake and skin occlusion following topical application of oils on adult and infant skin. **Journal of Dermatological Science**, v. 50, n. 2, p. 135-142, 2008.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C. **Ciências farmacêuticas: biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

TABOSA, M. A. M. **Microemulsões contendo lapachol: desenvolvimento, caracterização e avaliação biofarmacêutica *in vitro* e *in vivo***. 2013. 158f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2013.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsion. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108, p. 227-258, 2004.

TAMBURIC, S. The aging of polymer-stabilized creams: a rheological viewpoint. **Cosmetics & Toiletries**, v. 115, p. 43-49, 2000.

TEIXEIRA, A. P. **Avaliação *in vivo* da pele humana facial, por espectroscopia de Raman confocal: ação de cosmético**. 2013. 75f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade do Vale do Paraíba, São Paulo. 2013.

TOPAN, J. F. **Emulsões à base de óleo de girassol (*Helianthus annus* L.) com cristal líquido: avaliação das propriedades físico químicas e atividade cosmética**. 2012. 94f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2012.

TOSATO, M. G. **Análise dos constituintes da pele humana sob efeito dos cosmecêuticos por espectroscopia Raman**. 2010. 105f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade do Vale do Paraíba, São Paulo. 2010.

TURATTI, J. M. **Extração e caracterização de óleo de café**. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. Vitória. Resumo expandido. Brasília: EMBRAPA Café, p. 1533-1539, 2001.

VEGRO, C. L. R.; CARVALHO, F. C. **Disponibilidade e utilização de resíduos gerados no processamento agroindustrial do café**. Inf. Econ., v. 24, p. 9-16, 2006.

VIDAL, H. M. **Composição lipídica e a qualidade do café (*Coffea arabica* L.) durante armazenamento**. 2001. 93f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2001.

VIOTTO, L. A. **Projeto e avaliação econômica de sistemas de secagem de borra de café**. 1991. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1991.

WANG, Y. Y.; HONG, C. T.; CHIL, W. T.; FANG, J. T. *In vitro* and *in vivo* evaluations of tropically applied capsaicin and nonivamide from hydrogels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 224, p. 84-104, 2001.

WENDLANDT, W. W. **Thermal Analysis**. 3ª ed. New York: John Wiley & Sons, 1986.

WILKINSON, J. B.; MOORE, R. J. **Cosmetología de Harry**. Madrid: Ediciones Días de Santos S. A. p. 806-818, 1990.

WOLF, R.; PARISH, L. C. Barrier-repair prescription moisturizers: do we really need them? Facts and controversies. **Clinics in Dermatology**, v. 31, n. 6, p. 787-791, 2013.

ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D.; CHIMELLI, M. C.; OLIVEIRA, A. B. Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) de óleos de origem vegetal. **Visão Acadêmica**. v. 3, p. 13-18, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PESQUISA: Óleo da borra do café (*Coffea arabica L.*) e amêndoas doces: avaliação dos seus efeitos hidratantes na pele humana.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof.^a Dr.^a Leila Bastos Leal

Contato: Av. Professor Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, Recife – PE, CEP: 50740-520 Tel. (81) 3302-6593.

Contato com o Comitê de Ética: Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, Recife – PE, CEP: 50670-901 Tel. (81) 2126-8588.

Este termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Peça ao pesquisador que explique as palavras ou informações não compreendidas completamente.

INTRODUÇÃO

Você está sendo convidada a participar da pesquisa: **Óleo da borra do café (*Coffea arabica L.*) e amêndoas doces: avaliação dos seus efeitos hidratantes na pele humana**. Se decidir participar, é importante que leia estas informações sobre o estudo e seu papel nesta pesquisa. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com esta instituição. Em caso de você decidir retirar-se do estudo, deverá notificar o pesquisador que esteja lhe atendendo. É preciso entender a natureza e os riscos da participação e dar seu consentimento livre e esclarecido.

OBJETIVO

Avaliar os efeitos da aplicação de formulações cosméticas contendo óleo da borra do café e amêndoas doces na pele de voluntários.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

As formulações serão aplicadas na pele do seu antebraço. Após a aplicação, você receberá um questionário de avaliação sensorial onde você deverá atribuir notas

de 1 a 5 para cada formulação, considerando os parâmetros: toque, espalhabilidade e sensação na pele. Em seguida, serão feitas medidas de hidratação cutânea, utilizando equipamento que avalia a pele de maneira **não invasiva**, ou seja, sem causar corte ou dor, pois possuem sondas especiais, que são somente encostadas na pele durante a leitura.

Importante: Você não poderá usar nos antebraços nenhum produto cosmético 4 horas antes dos experimentos.

Posteriormente, as formulações lhes serão fornecidas sem nenhum custo e deverão ser aplicadas por você em sua casa, 2 (duas) vezes ao dia, por 20 dias, sendo que você deverá retornar ao Centro de Pesquisa e Desenvolvimento (CP&D) do Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC), localizado no Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) após 20 dias do início do estudo, para nova avaliação da pele com o equipamento acima mencionado.

RISCOS E DESCONFORTOS

O principal efeito esperado com o uso destas formulações é o aumento da hidratação cutânea. Porém, as formulações poderão eventualmente causar vermelhidão e/ou coceira, o que pode ocorrer com o uso de qualquer formulação cosmética, mas para a sua segurança haverá acompanhamento da pesquisa pela pesquisadora responsável pela mesma, sendo que, caso você venha a apresentar o menor sinal de alguma reação indesejável, você será imediatamente excluída da pesquisa e serão tomadas as providências necessárias para a recuperação do estado normal da sua pele e para que não fiquem sequelas, os pesquisadores serão obrigados a arcar com as despesas necessárias para isto.

BENEFÍCIOS

Levando em consideração que o objeto deste trabalho trata da investigação da ação hidratante de óleos vegetais, vislumbrando sua aplicabilidade na área cosmética, estamos tratando do aproveitamento de recursos naturais com desenvolvimento sustentável e conseqüentemente desenvolvimento regional e contribuição social. Você está sendo convidado a participar voluntariamente deste estudo, que visa avaliar

a função hidratante de formulações cosméticas contendo óleo da borra do café (*Coffea arabica L.*) e amêndoas doces.

A pesquisadora Leila Bastos Leal, responsável por este estudo, está à sua disposição para tirar todas as suas dúvidas antes e durante o estudo.

Em qualquer momento você poderá desistir dessa participação, sem que haja para tanto qualquer condição além de sua própria vontade.

Para que possamos fazer a pesquisa, precisamos de sua autorização. Se concordar em nos ajudar, assine este documento.

Os questionários utilizados no estudo serão armazenados em uma pasta no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento do NUDFAC/UFPE, sob a responsabilidade do pesquisador principal.

Depois de ter recebido a explicação e tirado minhas dúvidas, concordo em participar da pesquisa **ÓLEO DA BORRA DO CAFÉ (*Coffea arabica L.*) E AMÊNDOAS DOCES: AVALIAÇÃO DOS SEUS EFEITOS HIDRATANTES NA PELE HUMANA**. Estou ciente de que posso retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem que isto me traga alguma penalidade ou prejuízo.

Impressão digital

Nome:

Assinatura do voluntário

Testemunha

Testemunha

Prof.^a Dr.^a Leila Bastos Leal
Pesquisadora Responsável

Recife, ____ de _____ de 2015.

APÊNDICE B - RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE PRÓTONS (RMN ^1H)