UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÁRMACO E MEDICAMENTOS
ÁREA DE PRODUÇÃO E CONTROLE FARMACÊUTICOS

Sistemas nanoestruturados contendo óleos de polpa e de amêndoa de *Acrocomia aculeata* (Jacq.). Lodd.: preparação e caracterização físico-química

Fernanda Fialho de Oliveira

Tese para obtenção do grau de DOUTOR

Orientadora: Prof[a]. Associada Dra. Nádia Araci Bou Chacra

São Paulo

2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÁRMACO E MEDICAMENTOS
ÁREA DE PRODUÇÃO E CONTROLE FARMACÊUTICOS

Sistemas nanoestruturados contendo óleos de polpa e de amêndoa de *Acrocomia aculeata* (Jacq.). Lodd.: preparação e caracterização físico-química

Fernanda Fialho de Oliveira

Versão corrigida da Dissertação/Tese conforme resolução CoPGr 6018.
O original encontra-se disponível no Serviço de Pós Graduação da FCF/USP.

Tese para obtenção do grau de DOUTOR

Orientadora: Profa. Associada Dra. Nádia Araci Bou Chacra

São Paulo-SP

2016

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

O48s Oliveira, Fernanda Fialho de
Sistemas nanoestruturados contendo óleos de polpa e de amêndoa de *Acrocomia aculeata* (Jacq.). Lodd. : preparação e caracterização físico-química / Fernanda Fialho de Oliveira. -- São Paulo, 2016.
119p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia
Orientador : Bou-Chacra, Nádia Araci

1. Cosméticos : Tecnologia 2. Surfactantes : Cosméticos I. T. II. Bou-Chacra, Nádia Araci, orientador.

668.55 CDD

Fernanda Fialho de Oliveira

Sistemas nanoestruturados contendo óleos de polpa e de amêndoa de *Acrocomia aculeata* (Jacq.). Lodd.: preparação e caracterização físico-química

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor

_____
Prof[a]. Associada Dra. Nádia Araci Bou Chacra

_____
1º. examinador

_____
2º. examinador

_____
3º. examinador

_____
4º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

DEDICATÓRIA

Aos meus filhos, razão pela qual, com todas as dificuldades que passei foram a minha fonte de renovação para não desistir do doutorado.

Ao meu marido, pelo apoio incondicional. Por ter sido pai e mãe do Pedro Isaac para que eu pudesse chegar até aqui.

À minha querida mãe, pelo exemplo de resiliência. Com todas as dificuldades, adversidades, permitiu-se um novo recomeço.

À minha brilhante irmã, pelo apoio, auxílio e carinho.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Prof[a]. Associada Dr[a]. Nádia Araci Bou Chacra, pela orientação espetacular e dedicação incondicional.

Gratidão ao conhecimento adquirido,ao convívio, que certamente foi instrumento transformador na minha formação profissional.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Prof[a]. Associada Dr[a]. Maria Valéria Robles Velasco, pela amizade, apoio e o carinho que sempre teve comigo e com minha família.

AGRADECIMENTOS

Ao meu querido amigo Marcus, pelas palavras de fé, esperança e perseverança.

À Karoline Costa, Francieli Perez pelo apoio com a pequena Iara. Sem a ajuda de vocês eu não conseguiria ter concluido esta tese.

À Cláudia Lobo, pelo apoio cuidando dos meus pequenos na reta final.

Aos amigos do laboratório de tecnologia farmacêutica que diretamente ou indiretamente tornaram a realização deste trabalho possível.

Às queridas Michelli Ferreira e Camila Areais, pela ajuda na realização dos ensaios, no suporte com o artigo.

À Débora Marins, uma aluna dedicada que chegou na reta final e que foi imprescindível para a conclusão da tese.

Aos técnicos Edgar Muniz Machado Junior e Claudinéia Aparaceida Sales.

À Lis Monteiro pela ajuda e orientação no ensaio de encapsulação.

À Jéssica Zaghi pela amizade e carinho.

Nossa alma precisa estudar e conhecer, tanto
quanto nosso corpo precisa de respirar e nutrir-se
Meimei (Chico Xavier)

RESUMO GERAL

OLIVEIRA, F.F. Sistemas nanoestruturados contendo o óleo da polpa e da amêndoa da bocaiuva (Acrocomia aculeata) (Jacq.) Lodd. xx Mart.): Preparação e Caracterização físico-química. 2016. 119F. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. O fruto da bocaiúva pertence à família Palmae, espécie Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd.Ex Martius abundante e nativa no Estado do Mato Grosso do Sul, Pará, São Paulo e Minas Gerais. O óleo da polpa da fruta constitui de alto teor de ácidos graxos insaturados, com uma predominância de ácido oleico, chegando a 60% de sua composição e o óleo da amêndoa da bocaiúva apresenta além do oleico, aproximadamente 40% o ácido láurico (13%) e ácido palmítico (12,6%). O óleo da polpa é rico em fenóis totais (2,69 g por 100g de amostra), carotenóides (55mg eq ß- caroteno/100g de amostra) e possui alta atividade ORAC (283,93 µmol/g de amostra). Foram obtidos quatro novos sistemas nanoestruturados que estão apresentados a seguir com seus respectivos valores de potencial zeta e diâmetro médio: 1) carreador lipídico nanoestruturado contendo o óleo da polpa (-22,4 mV e 192,55 nm); 2) carreador lipídico nanoestruturado contendo o óleo da amêndoa (-23,95 mV e 227,75 nm); 3) nanopartículas poliméricas contendo o óleo da polpa (-47,5 mV e 127,70 nm) e 4) nanopartícula polimérica contendo o óleo da amêndoa da bocaiúva (-44,74 mV e 131,3 nm). O sistema nanoestruturado contendo o óleo de polpa de bocaiuva e o sistema contendo triglicérides de ácido cáprico e caprílico apresentaram a primeira concentração não-citotóxica igual a 0,098% (p/v). O sistema lipídico nanoestruturado contendo óleo de polpa de bocaiúva e os filtros químicos octocrileno e avobenzona revelou citotoxicidade maior quando comparado aos sistemas ipídicos nanoestruturados, isentos de filtros, conforme esperado. Os sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da amêndoa e o óleo da polpa da bocaiuva quando adicionados na formulação base (FPS 14), em concentração de 20% p/p, apresentou aumento respectivamente de 92,8% e 35,7 % no FPS. Tais resultados demonstraram interação sinérgica entre a formulação fotoprotetora e o sistema lipídico nanoestruturado contendo o óleo de amêndoa. Dessa maneira, esse sistema carreador lipídico nanoestruturado, aditivado com os filtros químicos constitui inovação com aplicação industrial. A obtenção dos sistemas nanoestruturados proposto no presente projeto permitirá o desenvolvimento de uma nova plataforma nanotecnológica farmacêutica e cosmética contendo os óleos vegetais do fruto da bocaiúva, de maior segurança, eficácia e de elevado valor agregado.

Palavras-chaves: Sistemas nanoestrututrados poliméricos, sistemas nanoestruturados lipídicos, carreadores lipídicos, óleo vegetal, óleo de polpa da bocaiuva, óleo da amêndoa da bocaiuva

ABSTRACT

OLIVERIA, F.F. Sistemas nanoestruturados contendo o óleo da polpa e da amêndoa da bocaiuva (Acrocomia aculeata) (Jacq.) Lodd. xx Mart.):Preparação e Caracterização físico-química. 2016. 119F. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015 Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Martius, known as bocaiuva is an oleaginous species of the family Arecaceae, a widely distributed palm in America. Pulp and almond oils were extracted by cold-pressed method. The oil from the pulp is rich in phenolics (2.69 g per 100 g of sample), carotenoids (beta-carotene 55 mg eq / 100g sample) and has high ORAC activity (283.93 umol/g of sample). Four new nanostructured systems were obtained which are shown below with their respective values zeta potential and average diameter: 1) nanostructured lipid carrier containing the pulp oil (-22.4 mV and 192.55 nm); 2) nanostructured lipid carrier containing the almond oil (-23.95 mV and 227,75nm); 3) polymeric nanoparticles containing the pulp oil (-47.5 mV and 127,70nm) and 4) polymeric nanoparticle containing the almond oil (-44.74 mV and 131.3 nm). The nanostructured system containing the bocaiuva pulp oil and the system containing oil and capric caprylic triglyceride presented the first non-cytotoxic concentration equal to 0.098% (w/v). The nanostructured lipid system containing bocaiuva pulp oil and chemical filters octocrylene and avobenzone showed a higher cytotoxicity when compared to the nanostructured lipid systems, free of filters. The nanostructured lipid carriers systems containing bocaiuva almond oil and pulp oil when added to the base formulation (SPF 14), in a concentration of 20% (w/w), increased respectively 92.8% and 35.7% the SPF. These results demonstrated a synergic interaction between the sunscreen formulation and nanostructured lipid system containing almond oil. Thus, the lipid carrier system nanostructured, spiked with the chemical filters is innovation with industrial application. The obtaining nanostructured systems proposed in the present design will allow the development of a new pharmaceutical nanotechnology platform and cosmetics containing oils from the fruit of bocaiuva, increased safety, efficiency and high added value. Thus, bocaiuva pulp and almond oils present interesting composition, consistent for the use in pharmaceutical and cosmetic topical products due to its moisturizing, emollient and anti-aging potential properties.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1: Reação de captura de DPPH (RUFINO, 2007) 34

CAPITULO II

Figura 1: Diferentes carreadores lipídicos nanoestruturados 59
Figura 2: Representação esquemática da HAP à quente e à frio 62
Figura 3: Gráfico da variação do pH das formulações NP1, NP2, NP3 e NP4 quando submetidos à refrigeração 79
Figura 4: Gráfico da variação do pH das formulações NP1, NP2, NP3 e NP4 quando submetidos à temperatura ambiente 79
Figura 5: Gráfico da variação do pH das formulações NP1, NP2, NP3 e NP4 quando submetidos à estufa 80
Figura 6: Gráfico da variação do pH das formulações NP1, NP2, NP3 e NP4 quando submetidos à luz solar indireta 80
Figura 7: Ilustração da ação dos blocos dos polímeros na estrutura da micela 84
Figura 8: Variação do pH das formulações NCL1, NCL2, NCL3, NCL4, NCLA 1 e NCLA2 quando submetidas à refrigeração 89
Figura 9: Variação do pH das formulações NCL1, NCL2, NCL3, NCL4, NCLA1 e NCLA2 quando submetidas à temperatura ambiente 89
Figura 10: Variação do pH das formulações NCL1, NCL2, NCL3, NCL4, NCLA1 e NCLA2 quando submetidas à estufa 90
Figura 11: Variação do pH das formulações NCL1, NCL2, NCL3, NCL4, NCLA1 e NCLA 2 quando submetidas à luz solar indireta 90

CAPITULO III

Figura 1: Estrutura histológica da pele 101
Figura 2: Demonstração do ataque de radicais livres às células normais e o efeito do estresse oxidativo 105
Figura 3: Transporte de elétrons mitocondrial 106
Figura 4: Avaliação do potencial citotóxico NCL Branco 118
Figura 5: Avaliação do potencial citotóxico NCL 3 118
Figura 6: Avaliação do potencial citotóxico NCL 7 120

LISTA DE QUADROS E TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Composição dos frutos de macaúba (g 100 g-1) 22
Tabela 2: Composição química, de minerais e valor energético da polpa e da amêndoa da bocaiúva (Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd ex Mart.). 23
Tabela 3: Composição dos ácidos graxos (%) dos óleos da polpa e da amêndoa da bocaiuva (Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart). 23
Tabela 4: Emulsão referência para realização dos testes do EHL 33
Tabela 5: Perfil dos ácidos graxos do óleo da polpa da bocaiuva 36
Tabela 6: Perfil dos ácidos graxos óleo da amêndoa da bocaiuva 37
Tabela 7: Composição de ácidos graxos dos óleos de oliva, açaí e abacate. 38
Tabela 8: Propriedades físico-químicas do óleo da polpa da bocaiúva 39
Tabela 9: Propriedades físico-químicas do óleo da amêndoa da bocaiúva 40
Tabela 10: Perfil da atividade antioxidante do óleo da polpa da bocaiúva 42
Tabela 11: Comparação da atividade antioxidante 43
Tabela 12: Avaliação da atividade fotoprotetora do óleo da polpa da bocaiúva 44
Tabela 13: Formulações desenvolvidas com óleo de amêndoas como fase oleosa, em função da determinação do valor EHL 45
Tabela 14: Cálculo EHL para o óleo da polpada bocaiuva 46
Quadro 1: Sistema Boot´s Star Rating Rating 47

CAPITULO II

Tabela 1: Fórmula de Referência para elaboração das nanopartículas poliméricas para o volume final de 10, 50 e 100 ml 69
Tabela 2: Proposta para o desenvolvimento de nanopartículas poliméricas obtidas pelo método de precipitação contendo os óleos de óleo polpa e de amêndoa de bocaiúva para volume final de 10 ml. 70
Tabela 3: Formulação de referência para estudos preliminares carreador lipídico nanoestruturado 71
Tabela 4: Proposta para o desenvolvimento de sistema carreador lipídico nanoestruturado contendo o óleo de Óleo polpa e Amêndoa de Bocaiúva. 72
Tabela 5: Média dos resultados obtidos para as leituras de potencial zeta, diâmetro hidrodinâmico médio e polidispersividade para a formulação NP1, NP2, NP3 e NP4 76
Tabela 6: Avaliação preliminar da estabilidade dos sistemas nanoestruturados poliméricos contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiúva 77
Tabela 7: Avaliação da estabilidade normal dos sistemas nanoestruturados poliméricos contendo o óleo da polpa Eo óleo da amêndoa de bocaiúva 78

Tabela 8: Média dos resultados obtidos para as leituras de potencial zeta, diâmetro e polidispersividade para os sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados F1, F2, F3, F4, FA 1 e FA 2. 82
Tabela 9: Avaliação preliminar da estabilidade das formulações carreadoras lipídicas nanoestruturadas 86
Tabela 10: Avaliação da estabilidade normal das formulações carreadoras lipídicas nanoestruturadas 87

CAPITULO III

Tabela 1: Formulações nanocarreadoras lipídicas contendo o óleo da polpa da bocaiúva ou o óleo da amêndoa da bocaiúva e aditivadas com octocrileno / avobenzona 112
Tabela 2: Escala para a classificação do potencial citotóxico estabelecido intralaboratorialmente para ativos e produtos cosméticos 114
Tabela 3: Avaliação da eficácia fotoprotetora 115
Tabela 4: Formulação Base FPS 115
Tabela 5: Média dos resultados obtidos para as leituras de potencial zeta, diâmetro e polidispersividade para os sistemas carreadoras lipídicos nanoestruturados 117
Tabela 6: Avaliação da atividade fotoprotetora das formulações carreadoras lipídicas nanoestruturadas 121

SUMÁRIO

PREFÁCIO 17

CAPÍTULO I 18
RESUMO 19
1 REVISÃO DA LITERATURA 20
1.1 Descrição morfológica do fruto da Macaúba: o ouro do Cerrado 20
1.2 Propriedades químicas do fruto 21
1.3 Potencial econômico e aplicações 24
2 OBJETIVOS 26
3 MATERIAL 27
3.1 Amostragem 27
3.2 Equipamentos 27
3.3 Matérias-primas, solventes e reagentes 28
4 MÉTODOS 30
4.1 Caracterização físico-química do óleo da polpa e da amêndoa da Bocaiúva 30
4.1.1 Perfil de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa (CG) 30
4.1.2 Determinação do índice de acidez 30
4.1.3 Determinação do índice de iodo 31
4.1.4 Determinação do índice de refração 32
4.2 Determinação do EHL crítico para o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da Bocaiuva 32
4.3 Avaliação da Atividade Antioxidante 33
4.3.1 Atividade antioxidante pelo método da redução do radical DPPH 33
4.3.2 Determinação dos fenóis totais óleo da polpa da bocaiúva 34
4.3.3 Determinação da Atividade por ORAC 35
4.3.4 Determinação de Carotenóide Totais 36
4.4 Avaliação do Fator de Proteção Solar *in vitro* 36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 37
5.1 Caracterizações físico-químicas do óleo da polpa e do óleo da amêndoa da bocaiúva 37
5.1.1 Perfil de ácidos graxos do óleo da polpa e da amênoda por cromatografia gasosa 37
5.1.2 Determinação do índice de acidez, índice de iodo e o índice de refração 39
5.2 Atividade antioxidante 41
5.3 Avaliação da atividade fotoprotetora do óleo da bocaiúva 44
5.4 Calculo EHL crítico óleo da amêndoa e da polpa da bocaiúv 46
6 CONCLUSÕES 49
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 50

CAPÍTULO II 57
RESUMO 58
1 REVISÃO DA LITERATURA 59

1.1 Nanocarreadores lipídicos 59
1.1.1 Técnicas de obtenção Nanocarreadores lipídicos 61
1.2 Sistemas poliméricos nanoestruturados 62
1.2.1 Técnicas de obtenção sistemas nanoestruturados poliméricos 63
1.3 Regulamentação 64
2 OBJETIVOS 67
3 MATERIAL 67
3.1 Equipamentos 67
3.2 Matérias-primas, solventes e reagentes 67
4 MÉTODOS 69
4.1 Preparações dos sistemas nanoestruturados poliméricos contendo óleo da polpa ou o óleo da amêndoa da Bocaiúva 70
4.2 Preparações dos carreadores lipídicos nanoestruturado contendo óleo da polpa ou o óleo da amêndoa da Bocaiúva 72
4.3 Caracterização físico-química dos sistemas nanoestruturados poliméricos e carreadores lipídicos contendo óleo da polpa ou o óleo da amêndoa da Bocaiuva: estudo exploratório 72
4.3.1 Determinação do diâmetro médio e índice de polidispersividade (PdI) 72
4.3.2 Determinação do potencial zeta 72
4.4. Determinação preliminar da estabilidade dos sistemas nanoestruturado polimérico e carreadores lipídicos nanoestruturados contendo os óleos da polpa e da amêndoa da Bocaiúva 73
4.4.1 Teste de centrifugação 73
4.4.2 Teste de estresse térmico 74
4.4.3 Teste de Estabilidade Normal dos sistemas nanoestruturado polimérico e carreadores lipídicos nanoestruturados contendo os óleos da polpa e da amêndoa da Bocaiúva 74
5 RESULTADO E DISCUSSÃO 76
5.1 Caracterização físico-química dos sistemas nanoestruturados poliméricos contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva 76
5.1.1. Diâmetro hidrodinâmico médio, índice de polidispersividade e potencial zeta 76
5.1.2 Avaliação preliminar da estabilidade do sistema nanoestruturado polimérico contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva 77
5.1.3 Teste de Estabilidade Normal 77
5.2 Caracterização físico-química dos carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva 81
5.2.1 Diâmetro hidrodinâmico médio, índice de polidispersividade e potencial zeta 81
5.2.2 Avaliação preliminar da estabilidade dos carreadores lipídicos nanoestruturados 86
5.2.3 Teste de Estabilidade Normal 86
6 CONCLUSÕES 92
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 93

CAPÍTULO III 99
RESUMO 100
1 REVISÃO DA LITERATURA 101
1.1 Pele e envelhecimento cutâneo: aspectos gerais 101
1.2 Papel dos Radicais livres no Envelhecimento Cutâneo 109
2 OBJETIVOS 109

3 MATERIAL 109
3.1 Equipamentos 109
3.2 Matérias-primas, solventes e reagentes 110
4 MÉTODOS 111
4.1 Preparação dos sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa da bocaiúva 111
4.2 Avaliação do potencial citotóxico 113
4.3 Avaliação do Fator de Proteção Solar *"in vitro"* 114
5 RESULTADO E DISCUSSÃO 116
5.1 Caracterizações físico-químicas dos nanocarreadores lipídicos 116
5.2 Avaliação da citotoxicidade 117
5.3 Avaliação da fotoproteção *in vitro* 121
6 CONCLUSÕES 123
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 124

PREFÁCIO

O projeto denominado “Sistemas nanoestruturados contendo óleo da polpa e óleo da amêndoa de *Acrocomia aculeata* (Jacq.). Lodd.: preparação e caracterização físico-química”, teve o objetivo de realizar **i)** a caracterização físico-química do óleo da polpa e da amêndoa extraídos do fruto da bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Martius, **ii)** o desenvolvimento dos sistemas nanoestruturados poliméricos e carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa ou o óleo da amêndoa da bocaiúva *(Acrocomia aculeata)* preparação e caracterização físico-química e **iii)** avaliação da atividade antioxidante, atividade fotoprotetora *in vitro* e potencial citotóxico*in vitro* das formulações nanocarreadoras lipídicas contendo óleo da polpa ou óleo da amêndoa da bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Martius, aditivada ou não de filtro químico (octocrileno e avobenzona)

O trabalho experimental foi fragmentado em capítulos. No **Capítulo I** estão descritos: os materiais, métodos e os resultados para a caracterização dos óleos da bocaiúva. No **Capítulo II** estão descritos os materiais, métodos e resultados para os sistemas nanoestruturados poliméricos e carreadores lipídicos nanoestruturados, e no **Capítulo III**, estão descritos os materiais, métodos e resultados para a atividade a atividade fotoprotetora e o potencial citotóxico do sistema carreador lipídico nanoestruturado contendo óleo da polpa ou o óleo da amêndoa da bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Martius, aditivada ou não de filtro químico (octocrileno e avobenzona).

CAPÍTULO I

ÓLEO DA POLPA E ÓLEO DA AMÊNDOA DA BOCAIUVA(*Acrocomiaaculeata*): CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E AÇÃO FOTOPROTETORA

RESUMO

Abocaiúva, também conhecida como macaúva, macaúba ou bocajá, cujo nome científico é *Acrocomiaaculeata*(Jacq.) Lodd.ExMartius, faz parte da família *Arecaceae.* Éumapalmeiraamplamente distribuída no continente americano eno Brasil. O óleo da polpa da fruta éconstituído de alto teor de ácidos graxos insaturados, com predominância de ácido oleico, (~ 78%). Os valores aproximados do índice de acidez expresso em ácido oléico (IA), índice de iodo (Ii) e refração (η) foram respectivamente de 2,46 ± 0,08, 73,25 ± 0,10 e 1,463 ± 0,04.O óleo da polpa ainda apresentou um grande potencial antioxidante com IC_{50}de 23,89 $\mu g.ml^{-1}$, fenólicos totais de 2,69 ± 0,07 g/100g de amostra e alta atividade pelo método ORAC de 55,98± 1,50 µmol/g de amostra.O óleo da amêndoaé rico em ácido linoléico (~60%) e oleico (~23%) e os valores aproximados do (IA), (Ii) e (η) foram de 1,180 ± 0,04, 29,50 ± 0,12 e 1,456 ± 0,04respectivamente. O óleo da polpa também apresentou ação fotoprotetora (FPS 4) e em formulação base com FPS 7, ao adicionar o óleo da polpa obteve-se um aumento da fotoproteção (FPS 17). O Brasil é o país com a maior biodiversidade abrangendo mais de 20% do número total de espécies do planeta e estima-se que as populações indígenas brasileiras dominem a aplicação medicinal de 1300 plantas da nossa flora. Porém, essa grande disponibilidade de espécies ainda se mantém em estado latente como fonte para a produção de insumos com aplicabilidade no setor farmacêutico e cosmético. O renovado interesse mundial por produtos cosméticos e outros produtos derivados da biodiversidade, estimula o investimento de países industrializados em bioprospecção. Para o Brasil, esse estímulo se apresenta comooportunidade econômica e excelente mecanismo para a indução de políticas públicas, no âmbito social, com capacidade de promover a inclusão de comunidades agrárias na cadeia produtiva do país. Desta forma, a primeira etapa do projeto teve como objetivo a caracterização dos óleos da espécie *Acrocomia acuelata*, com a finalidade de aplicação em produtos farmacêuticos e cosméticos, respeitando a biodiversidade brasileira por meio de autorização do órgão que rege o patrimônio genético (Cgen), bem como, no compartilhamento do conhecimento científico adquirido com as cooperativas extrativistas responsáveis pelo fornecimento dos óleos em estudo.A composição dos óleos demonstra seu elevado potencial para a aplicação em produtos tópicos farmacêuticos e cosméticos, com finalidade de hidratação, emoliência e ação antienvelhecimento.

Palavras-chaves: óleo da polpa da bocaiúva; óleo da amêndoa dabocaiúva; perfil ácido graxos; atividade antioxidante; fotoproteção.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Descrição morfológica do fruto da macaúba: o ouro do cerrado

A bocaiúva, também conhecida como macaúva, macaúba ou bocajá,cujo nome científico é *Acrocomiaaculeata*(Jacq.) LoddEx Martius, faz parte da família *Arecaceae*, como o buriti, acuri e tucum. Éumapalmeiraamplamente distribuída no continente americano, incluindo México, Antilhas, Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai (SOARES *et al.*, 2011; SANTOS & FERNANDES, 2012; HENDERSON, GALEANO & BERNAL, 1995). No Brasil, a área de ocorrência estende-se pelos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro, passando por Minas Gerais e por todo o centro-oeste, nordeste e norte do Brasil.

O termo, que vem dotupi*ma'kaí'ba*(pela junção de*bacaba*mais*yuba*, que significa "coco amarelo"),é visto em váriostopônimosno Brasil, entre os quais os municípiosdeMacaíba(Rio Grande do Norte),Bocaiúva(MinasGerais e Paraná).A grande produção de frutos e o consumo destes por várias espécies de animais como as araras, cutias, capivaras, antas, emas, facilita a sua disseminação (LORENZI, 1992).

Esta palmeira arborescente de mais de 16 metros de altura, pode alcançar aos imponentes 25 metros. Suas folhas possuem de 4 a 5 metros.Encontrada com muita facilidade no centro-oeste do país, principalmente no perímetro urbano e rural do Cerrado e Pantanal (MOTTA *et al*, 2002; SCARIOT, LLERAS & HAY, 1991 e 1995).A floração ocorre nos meses de abril a junho e os frutos amadurecem entre novembro e janeiro, e cada cacho pode apresentar de 40 a 60 sementes.

Inúmeras pesquisas sugerem a utilização de biomassa para fins energéticos, principalmente para fins de seu uso como combustível. O Programa Nacional de Biodiesel, uma política pública nacional, trouxe incentivos para a produção de plantas oleaginosas. Dentre as espécies exploradas comercialmente, destacam-se o nabo-forrageiro, a soja, mamona e algumas palmáceas como a macaúba e dendê (AMARAL, 2007).

Estudos revelaram que os frutos da macaúba podem gerar mais de 5000 kg de óleo por hectare, o que despertou o interesse de pesquisadores para a produção de Biodiesel com esta espécie (TICKEL,

2000). A soja, em contrapartida, produz 500 kg/ hectare, o girassol 1000 kg/hectare e a mamona 1500 kg/ hectare.

O fruto da bocaiúva é constituído por epicarpo (casca), mesocarpo mucilaginoso e fibroso (polpa), endocarpo duro e denso (tegumento), e semente (amêndoa) adnata ao endocarpo (SANTOS *et al.* 2013). Os frutos são esféricos ou ligeiramente achatados, em forma de drupa globosa com diâmetro variando de dois e meio a cinco centímetros. O epicarpo rompe-se facilmente quando maduro. O mesocarpo é comestível, tem sabor adocicado, de coloração predominantemente amarelo (uns mais escuros, outros mais claros). O endocarpo é fortemente ligado à polpa (mesocarpo), com parede enegrecida.As amêndoas oleaginosas também são comestíveis. Estas são revestidas de uma fina camada de tegumento. Cada fruto contém, geralmente, uma semente envolvida por endocarpo duro e escuro com aproximadamente três milímetros de espessura (GRAY, 2012;FRUITS, 2005; HENDERSON, GALEANO & BERNAL, 1995; SILVA, 1994a; BONDAR, 1964).

Segundo Bondar (2013), o gênero*Acrocomia* abrange quinze espécies distintas, das quais dez são consideradas nativas do Brasil. As palmeiras são de forma coloquial chamadas pelos botânicos de “Príncipes das florestas”. Seu alto porte e peculiaridades às fazem aristocratas no reino vegetal (LORENZI *et al.*, 1996). E não é só o porte que atraí a atenção, conhecendo as propriedades químicas do fruto, entende-se o porquê de ter despertado interesse em várias linhas de pesquisa.

1.2Propriedades químicas do fruto

Sabe-se que componentes genéticos, idade da planta, fertilidade do solo e clima são fatores que podem alterar a composição e produtividade de uma planta (MONTEZANO, CORAZZA& MURAOKA,2006). No caso da macaúba e outros frutos silvestres, além desses elencados acima, outros fatores podem contribuir para que haja diferenças nos valores apresentados nas pesquisas científicas já realizadas com estes frutos. O primeiro deles está ligado à colheita do fruto que, ao amadurecer, se solta do cacho e cai. O ponto ideal de colheita, para fins de processamento, é identificado como o momento da queda dos primeiros frutos do cacho, pois se tem o fruto maduro, fresco e livre de processos deteriorantes, como o ataque de micro-organismos, que propiciam elevação crescente do teor de acidez (GALVANI, 2010) e alteração das relações de massa entre as diversas partes do fruto.

Outro fator é o tempo quedecorre entre a colheita do fruto e as análises nos laboratórios de pesquisa. Os frutos devem ser higienizados, despolpados e se não forem realizados os ensaios num prazo máximo de 5 dias, devem ser estocados sob refrigeração (em freezer -20ºC). A diferença de variedades, grau de maturação (SZPIZ *et al.*, 1989) e local de coleta do fruto, também podem trazer diferenças nos resultados.Segundo os autores, a composição e umidade média dos frutos de macaúba seguem a seguinteproporção, conforme ilustrado na **Tabela 1.**

Tabela 4. Composição dos frutos de macaúba (g. 100 g^{-1})

Variável	**Faixa**	**Média**	**Desvio**
Peso do Fruto (g)	21,2 – 44,0	30,10	5,8
Polpa	18,8 – 33,2	26,10	3,6
Caroço (endocarpo)	33,2 – 64,9	46,30	5,5
Amêndoa	4,5 – 11,0	7,40	1,7
Óleo da Polpa	30,0 – 77,7	65,60	9,0
Óleo da Amêndoa	35.4 – 69,4	47,90	5,6
Umidade média % (*)	33,0 – 36,5	34,73	1,4

Fonte: (*) CETEC, 1983, citado por AMARAL, 2007.

Para umidade do fruto, foram reportados valores no estado do Mato Grosso do Sul entre 49,06% na região de Campo Grande a 63,00% na região de Corumbá (CICONINI *et al.*, 2013). Essa disponibilidade de água favorece a atuação de micro-organismos, principalmente quando o fruto cai no chão e há ruptura da casca.

A polpa contém quantidade significativa de cálcio, fibra alimentar e betacaroteno. A amêndoa possui considerável quantidade de proteínas, lipídeos, fibras e minerais. Estudos reportaram presença de carotenóides totais na polpa, aproximadamente 82% de betacaroteno (RAMOS *et al.*, 2008). O conteúdo de fibras da bocaiúva é muito superior aos demais frutos comumente consumidos pela população como a banana nanica (1,9 g. 100g-1), a goiaba vermelha (6,2 g. 100 g^{-1}), a laranja da terra (4,0 g. 100 g^{-1}), a maçã Fugi (1,3 g.100 g^{-1}), o mamão formosa (1,8 g. 100 g^{-1}), entre outros (TACO, 2011). Na **Tabela 2** podemos constatar a composição química, minerais e valor energético da bocaiúva, em estudo realizado por [1]SILVA *et al.*.(2008); [2]HIANE*et al.*.(2006).

Tabela 5. Composição química, de minerais e valor energético da polpa e da amêndoa da bocaiúva (*Acrocomiaaculeata* (Jacq.) LoddexMartius).

Determinação	**Polpa[1]**	**Amêndoa[2]**
Umidade g.100 g^{-1}	34,32	6,5
Proteínas g.100 g^{-1}	2,76	17,57
Lipídeos g.100 g^{-1}	14,93	51,71
Carboidratos g.100 g^{-1}	35,06	6,39
Fibra Alimentar g.100 g^{-1}	11,14	17,23
Cinzas g.100 g^{-1}	1,78	1,99
Cálcio mg.100 g^{-1}	130,0	94,30
Zinco	2,15	30,93
Ferro	0,88	32,91
Valor Energético total, Kcal.100 g^{-1}	285,65	561,23

Fonte: [1]Silva*et al*..(2008); [2]Hiane*et al*..(2006)

Na composição dos óleos da polpa e da amêndoa destaca-se o conteúdo do ácido graxo oleico **(Tabela 3).** Os óleos podem ser usados pela indústria farmacêutica, de cosméticos, pelo setor energético ou ainda para consumo humano.

Tabela 6. Composição dos ácidos graxos (%) do óleo da polpa, farinha da polpa e do óleo da amêndoa da bocaiúva (*Acrocomiaaculeata* (Jacq.) Lodd. exMartius).

Ácidos graxos	**Polpa**	**Farinha de Polpa**	**Amêndoa**
Caprílico	0,45	0,41	5,96
Cáprico	0,27	0,23	1,79
Láurico	1,97	1,98	12,95
Mirístico	0,45	0,42	9,49
Palmítico	15,96	18,53	12,62
Palmitoléico	1,01	4,19	2,29
Esteárico	5,92	4,88	6,58
Oléico	65,87	62,16	40,17
Linoléico	5,10	4,03	5,91
Linolênico	2,52	2,74	1,92
Araquidônico	0,50	0,53	0,30
%Ácidos Saturados	25,52	26,98	49,69
%Ácidos Insaturados	66,88	66,35	42,46

Fonte: HIANE*et al.*, 2005

1.3 Potencial econômico e aplicações

A bocaiúva, apesar de todas as qualidades e as potencialidades econômicas, tem sido explorada de forma rudimentar e doméstica em quase todo o território nacional. Diversos grupos de pesquisa distribuídos em todo o território nacional, sobretudo onde a espécie é encontrada, estudam alternativas para melhor aproveitamento. Os estudos demonstram que a macaúba tem aplicação muito diversificada: o estipe, por exemplo, é utilizado como madeira para mourão, tábuas, ripas, calhas para água, etc. A medula do estipe e o meristema apical podem ser aproveitados como alimento e as folhas servem de matéria-prima para artesanato. O mesocarpo é geralmente empregado como goma de mascar, para fabricação de licores, sorvetes, doces e óleo de cozinha. O endocarpo duro pode facilmente substituir a brita de concreto ou para material de artesanato. O palmiste pode ser utilizado para produção de óleo de cozinha, ingrediente parasabão (possui alta concentração de ácido láurico, componente de cosméticos), ou consumo *"in natura"* (ALMEIDA, 1998; ARBOLES, 2005; FORTES &BAUGH, 1999; FRUITS, 2005; GARRIDO, 2005; HENDERSON, GALEANO & BERNAL, 1995; LLERAS&CORADIN, 1988; LORENZI, 1996; MANZANO,2005;MIRANDA *et al.*,2001;POTT&POTT,1994 ;JURACY,2005; SILVA, 1994).

A polpa e a amêndoa na forma *in natura* são muito consumidas pela população e pelos povos tradicionais como os quilombolas e indígenas. Na comunidade indígena o fruto é conhecido como chiclete de bugre, uma vez que eles colocam o fruto redondo na boca e passam horas "mascando" o fruto, até consumir toda a polpa.

Além do consumo *in natura*, a polpa e as amêndoas são utilizadas pela população local para a culinária regional, que foram diversificando receitas na forma de sorvetes, bolos, paçoca doce, cocada (RAMOS *etal*, 2008). A farinha processada artesanalmente já é encontrada em alguns mercados centrais na região sul-mato-grossense e também pode ser adquirida diretamente de associações que se organizaram para explorar de maneira sustentável o fruto, como é o caso da Central do Cerrado (http://www.centraldocerrado.org.br), que não envolve apenas o estado do Mato Grosso do Sul, mas todos os Estados que possuem o bioma cerrado em seu território.

O apelo "selo verde", "produto orgânico, são algumas bandeiras associadas a produtos provenientes de fonte renováveis, sem uso de contaminantes (agrotóxicos). Esses produtos são considerados ecologicamente corretos", e produzidos com responsabilidade ambiental, conservando os recursos naturais da biodiversidade. Tal conceitojá não é mais uma bandeira que define uma instituição

ou um produto, mas fator elementar como prática sustentável e de desenvolvimento responsável nas corporações. Neste sentido, os óleos de origem vegetal são uma fonte alternativa e substituta dos petrolatos (óleo mineral – proveniente do petróleo), pois além de serem provenientes de fonte mais limpa (do pontode vista ecológico), muitos óleos vegetais têm atividade farmacológica. Tendo em vista os fatores acima expostos e considerando a composição química do fruto da Bocaiúva, que é rico em ácidos graxos, oligoelementos, terpenos e betacaroteno, é possível inferir o elevado potencial de aplicação desse fruto e seus produtos derivados no setor farmacêutico e cosmético, em especial para o desenvolvimento de produtos com aplicação tópica.

2 OBJETIVOS

A primeira etapa do trabalho teve o objetivo realizar a caracterização físico-química do óleo da polpa e o óleo da amêndoa de bocaiúva (*Acrocomiaaculeata)*, assim como, avaliar o potencial antioxidante e o fator de proteção solar do óleo da polpa de bocaiúva (*Acrocomiaaculeata)*.

3 MATERIAL

3.1 Amostragem

Os frutos maduros foram coletados entre os meses de novembro e fevereiro dos anos de 2012 a 2016, selecionados descartando todos aqueles que apresentaram rachaduras, alteração de cor e de formato, e armazenados em container sob refrigeração até a extração do óleo.

As cascas foram removidas manualmente e submetidas à despolpadeira tendo em vista a separação da polpa, das amêndoas. A massa da polpa foi prensada a frio (extração a frio) e o óleo extraído coletado em tonéis de polipropileno, hermeticamente fechados e armazenados em ambiente fresco e protegidos da luz. A extração do óleo da amêndoa foi efetuada da mesma forma.

Este processo foi realizado por uma cooperativa de produtores rurais, que por sua vez, entregam para a empresa gestora da cooperativa, que é Cocal Brasil óleos especiais. Esta empresa faz parte da RTS (rede de tecnologias sociais - http://www.rts.org.br). Os óleos para a realização destas análises foram obtidos junto a esta empresa, a Cocal Brasil.

3.2 Equipamentos

Agitador de Tubos vortex, labdancer, IKA®;

Agitador Magnético com aquecimento, modelo Q261, Quimis®;

Agitador Mecânico, modelo T25 basic, KikaLabortechnik®;

Balança analítica (precisão 1mg-220g), Shimadzu®;

Balança semi-analítica ,Shimadzu®;

Centrifuga Excelsa Baby I 206, Fanem®

Cromatógrafo a gás CG 17,Class CG 10, Shimadzu®;

Cubetas de quartzo,com 1cm de caminho ótico;

Embalagens plásticas de PVC opacas com capacidade de 30g,Vepakum;

Espectrofotômetro UV-2000S Labsphere®;

Espectrofotômetro UV-VIS Evolution 600®;

Espectrofotômetro, GENESYS™, Rochester, USA, SPECTRONIC®20

Estufa com graduação de temperatura entre 0 a 100^0 C, Nova Ética®;

Filtro 142 WW MILLIPORE®;

Geladeira, Electrolux®,Infinity DF80X

Multi-Detection microplate reader Synergy, BIOTEK,modelo Synergy HT®

Placa 96 poços, Fischer Scientific®

Peagâmetro, Quimis®

Placa aquecedora com agitação, Quimis®

Placa de poli-metilmetacrilato (PMMA)

Potenciômetro, Quimis®

Purificador de Água, Milli Q®

Refratômetro, 30GS, METTLER®

Termo-Higrômetro 7666 - Incoterm®

Termômetro decimal, escala de 0 a 100^0 C, Modelo 5097, Incoterm®

Ultracentrífuga- Modelo Galaxy16D, VWRTM®

3.3 Matérias-primas, solventes e reagentes

AAPH (2,2' –azobis (amidinopropane) dihydrochloride) PA, Sigma Aldrich®

Acetona PA, Synth®

Ácido clorídrico PA Synth®

Ácido gálico PA, Sigma ChemicalCo®.St Louis, EUA G 7384®

Ácido sulfúrico PA Synth®

Água purificada Milli-Q®;

Amido solúvel PA, Synth®

Carbonato de sódio PA, Synth®

Clorofórmio PA Synth®

DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) P.A.; Sigma-Aldrich®

Etanol PA Synth®

Éter etílico PA Synth®

FenolftaleínaSynth®

Fluoresceína 28803, Sigma Aldrich®

Hexano, Synth®

Hidróxido de Potássio PASynth®

Hidróxido de Sódio P. A. Synth®

Iodeto de Potássio PA, Synth®

Monoestearato de sorbitano, J.T. Baker;

Monooleato de polioxietileno-sorbitan, J.T. Baker;

Reagente Folin-Ciocalteau, Merck®

Solução de iodo cloro P.A. seg. wijs, Synth®

ß-caroteno, Sigma-Aldrich®

ß-ciclodextrina, Sigma-Aldrich®

Tiossulfato de Sódio PA, Synth®

Trifluoreto de Boro P. A. Synth®

Trolox®-Hydroxy2, 5,7,tetramethylchromane2-carboxylic acid,Sigma®

4 MÉTODOS

4.1 Caracterizações físico-químicas do óleo da polpa e do óleo da amêndoa da Bocaiúva

4.1.1 Perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa

Para a análise do perfil de ácidos graxos do óleo da polpa e do óleo da amêndoa da bocaiúva se faz necessário realizar a esterificação dos mesmos. A primeira etapa da esterificação foi realizada com a hidrólise dos triglicerídeos presentes nos óleos por meio da solução metanólica de hidróxido de potássio (0,5M). Os ésteres obtidos foram metilados com solução metanólica de trifluoreto de boro (14%).

Após a esterificação do óleo da polpa e da amêndoa, procedeu-se aidentificação e quantificação dos ácidos graxos por cromatografia gasosa.Os óleos foram submetidos ao cromatógrafo a gás, com coluna capilar SP 2560 de sílica fundida de 100m de comprimento e 0,25mm de diâmetro interno, com detector de ionização de chama, hélio como gás de arraste e fluxo de 1mL/minuto. As condições cromatográficas foram às seguintes: temperatura do detector de 275,0ºC, temperatura do vaporizador de 275ºC, temperatura inicial da coluna de 170ºC durante 50 minutos, temperatura final da coluna de 225,0ºC, durante 30 minutos, velocidade de aquecimento 4,0ºC por minuto e *split* 1/50.

Foram realizadas três repetições para cada análise do perfil de ácidos graxos. A determinação da área de cada pico foi controlada de acordo com as instruções do equipamento. Para a identificação dos ácidos graxos foram utilizados padrões internos de esteres metilicos de acidos graxos (Supleco 37, Fame Mix, Sigma-aldrich®).

4.1.2 Determinação do índice de acidez

Para a determinação do índice de acidez do óleo da polpa e do óleo da amêndoa da bocaiúva foi realizada titulação ácido-base. A solução de hidróxido de sódio0,1N foi empregada como titulante e a fenolftaleína como indicador. A técnica consistiu no seguinte procedimento: pesaram-se quantitativamente 0,4 g de óleo em erlenmeyer de 25mL. Adicionaram-se 5mL de solução éter:etanol

(2:1). Titulou-se com solução padrão de hidróxido de sódio 0,1 N, na presença de solução alcoólica de fenolftaleína a 1%. Foi preparado um branco da mesma forma que a amostra, foram anotados os volumes utilizados de hidróxido desódio 0,1 mol/L nas titulações da amostra e do branco*(AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, 2012)*.O índice de acidez foi calculado de acordo com a **Equação 1**.

Equação (1). Cálculo Índice de acidez

$$\textbf{Acidez em ácido oleico (\%)} = \frac{v \times f \times M \times 28{,}2}{m}$$

Onde:

v= volume(mL) gasto da solução de hidróxido de sodio

M = Molaridade da solução de NaOH

f= fator de correção.

m= massa da amostra.

4.1.3 Determinação do índice de iodo

O índice de iodo foi determinado para o óleo de amêndoa e da polpa de bocaiúva, empregando o reagente de Wijsconforme descrito a seguir:pesaram-se 0,22g do óleo, adicionou-se ao erlenmeyer de 500mL. Foram acrescentados15mL de clorofórmio e 25mL do reagente de Wijs. O frasco foi imediatamente tampado e submetido à agitação manual em velocidade moderada. Após essa etapa, a solução permaneceu em repouso no escuro (para que a luz não reaja com o iodo) por período de 1h à temperatura ambiente.A reação foi efetuada no escuro para garantir que os halogênios fossem somente de adição e não de substituição, pois a luz catalisa a reação de substituição. Após esse período, foram

adicionados 10mL de iodeto de potássio SR (FARMACOPÉIA, 1988) a 15% (p/v) e 100mL de água destilada.

Essa solução foi utilizada para a titulação com tiossulfato de sódio 0,1 N sob agitação constante, até apresentar a coloração levemente amarelada. Quando essa cor foi observada, adicionou-se 2mL de solução de amido SR (FARMACOPÉIA, 1988) e a titulação foi prosseguida até a cor azul desaparecer. O mesmo procedimento foi realizado em amostra branca (S.S.O.G, 1976).

4.1.4 Determinação do índice de refração

O índice de refração foi determinado empregando refratômetro de ABBÉ termostatizado a 40ºC conforme método proposto pela AOCS (1993). Primeiramente ajustou-se o refratômetro *Abbé* com água destilada (IR 20ºC = 1,333) e adicionaram-se duas gotas de amostras entre os prismas. O foco foi ajustado e a leitura na escala informou diretamente o índice de refração absoluto à temperatura ambiente. Os prismas foram rigorosamente lavados com tolueno e acetona, respectivamente e, posteriormente, secos com papel absorvente.

4.2 Determinação do EHL crítico para o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiúva

Foram preparadas emulsões seriadas do óleo de amêndoas e da polpa de Bocaiúva com um par de emulgentes de EHL conhecido, monoestearato de sorbitano de EHL 15 e monooleato de polioxietileno-sorbitan de EHL 4,7, misturados em proporções variáveis, de modo a originarem valores definidos e escalonados de EHL (FERREIRA, 2000). Na **Tabela 4** está apresentada a concentração escalonada dos tensoativos utilizados para realizar o cálculo do EHL crítico do óleo da amêndoa e da polpa da bocaiúva.

As fases aquosas (monooleato de polioxietileno-sorbitan e água) e oleosas (monoestearato de sorbitano e óleo da polpa ou amêndoa) foram aquecidas a 75,0ºC separadamente, posteriormente unidas ao verter a fase aquosa na oleosa, mantidas sob agitação manual por quinze minutos à temperatura ambiente.

Tabela 4. Emulsão referência para realização do teste do EHL

Concentração de tensoativos utilizados para o cálculo do EHL crítico do óleo de polpa e amêndoa de bocaiúva, estes utilizados como a fase oleosa							
Emulsão Referência	% Monoestearato de sorbitano	(g)	% Monoleato de polioxietileno-sorbitan	(g)	Óleo (ml)	Água (ml)	E.H.L *
1	90	0,45	10	0,05	1,00	8,5	5,73
2	80	0,40	20	0,10	1,00	8,5	6,76
3	70	0,35	30	0,15	1,00	8,5	7,79
4	60	0,30	40	0,20	1,00	8,5	8,82
5	50	0,25	50	0,25	1,00	8,5	9,85
6	40	0,20	60	0,30	1,00	8,5	10,88
7	30	0,15	70	0,35	1,00	8,5	11,91

*(FERREIRA, 2000)

As emulsões formadas foram mantidas em repouso por 24 horas e observadas quanto às características visuais e estabilidade após o teste na centrífuga (30 minutos a 3000 rpm) (FERREIRA, 2000; BRASIL, 2004; PRESTES *et al.*, 2007).

4.3 Avaliação da Atividade Antioxidante

4.3.1 Atividade antioxidante pelo método da redução do radical DPPH

O método para avaliar a atividade antioxidante do óleo da polpa da bocaiúva foi o da redução do radical DPPH, cuja reação química está ilustrada na **Figura 2**, produzindo um decréscimo na absorbância a 517nm (RUFINO*et al.*, 2007). O ensaio da atividade antioxidante foi conduzido apenas para o óleo da polpa, em decorrência da quantidade de terpenos e β-carotenos presentes.

O potencial antirradicalar foi expresso como a concentração das amostras capazes de inibir 50% da absorbância do DPPH• (IR_{50} estimado) por espectrofotometria (Espectrofotômetro UV- VIS

Evolution 600® com cubetas de quartzo com caminho ótico de 1,0 cm) na região da radiação visível a 517,0 nm. O controle foi realizado por meio da determinação do decaimento da absorbância das amostras ($Abs_{amostra}$) correlacionado com o controle negativo ($Abs_{controle}$), constituído por álcool etílico absoluto 99,5% PA. e solução 100,0 µM de DPPH•, na proporção indicada. A porcentagem de sequestro de radicais (%SRL) livres foi calculada de acordo com a **Equação (2).**

Equação (2). Porcentagem de seqüestro de radicais livres

$$\mathbf{\%SRL} = [(Abs_{controle} - Abs_{amostra}) \times 100]/Abs_{controle}$$

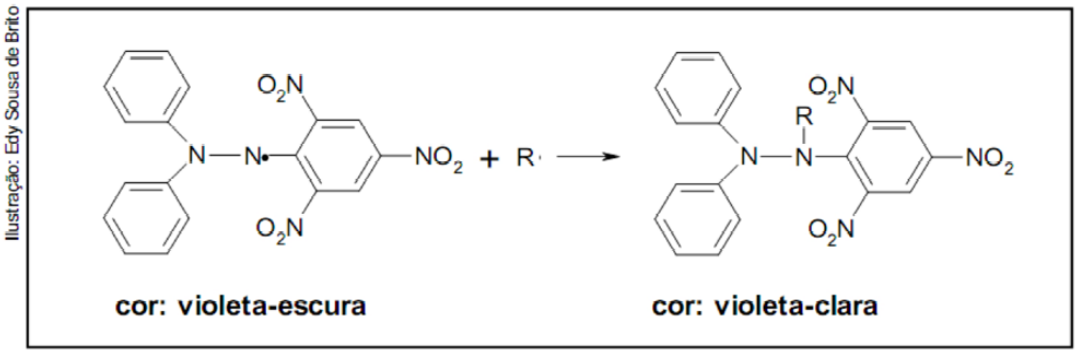


Figura 2.Reação de captura de DPPH (RUFINO*et al.*, 2007).

4.3.2 Determinação dos fenóis totais óleo da polpa da bocaiúva

A quantificação colorimétrica foi realizada segundo (SINGLETON *et al.*, 1999), utilizando-se 2,5 ml do óleo da polpa de bocaiúvadiluído em metanol (1g em 40 ml de metanol50%(v/v). Adicionaram-se 2,0 ml de água destilada e 0,25 ml de reagente Folin-Ciocalteau. Após o período de incubação de 5 minutos, foi adicionado 1mL da solução carbonato de sódio 10% (p/v), mantido por mais 60 minutos e então realizada a leitura no comprimento de onde de 765nm no espectrofotômetro (SPECTRONIC® 20 GENESYS™, Rochester, USA). Para o branco foi utilizado o metanol puro.

Para a quantificação foram realizadas leituras em triplicatas e obtida uma curva-padrão com ácido gálico (Sigma Chemical CO, St. Louis, USA – G 7384) nas concentrações (50,0; 100,0; 200,0; 300,0; e 500,0 µg/ml) e obtida a equação da curva de calibração**.**O teor de composto fenólico total no óleo foi expresso como mg equivalente em ácido gálico por grama de amostra (mg $EAG.g^{-1}$). Para o branco foi utilizado apenas os reagentes com 0,5 ml de metanol.

4.3.3 Determinação da atividade por ORAC

O método ORAC consiste na reação da solução de AAPH (2,2'-azobis (amidinopropane) dihydrochloride) que é um gerador de radical livre com fluoresceína, que foi adicionada à amostra.Quanto menor a intensidade da fluoresceína, maior é a capacidade antioxidante do composto. Foi utilizado para o experimento o método lipofílico segundo PRIOR *et al.* ,2005.

Em uma placa de 96 poços (Fischer Scientific, Hanover Park, IL) foram distribuídos nos poços: o padrão Trolox® (100mM) ; o óleo de polpa de bocaiúvadiluído em solução de acetona:água na proporção 1:1 com β-ciclodextrinaa 7%(750 µl); e o reagente fluoresceína (40nM) (1000 µl). A seguir, a placa foi incubada a 37,0°C durante 30 minutos. Após este período foi adicionado automaticamente o reagente AAPH (153nM) (1000 µl), agitando-se por 10 segundos e a seguir foi medida a fluorescência em um leitor de placas *Multi-DetectionmicroplatereaderSynergy* (BIOTEK®,modeloSynergy HT), com excitação de 493nm (filtro 485/20) e emissão em 515nm (filtro 528/20) com leituras realizadas a cada minuto, durante 1 hora. Para a preparação da curva de calibração foram utilizadas concentrações (50,0; 37,5; 25,0; 12,5; e 6,25 µL). O resultado foi calculado por meio da equação de regressão entre a concentração do padrão Trolox® e a área sob a curva de decaimento da fluorescência (AUC). O resultado foi expresso em micromoles (µmol) equivalentes de Trolox® por grama de amostra.Para o branco foi utilizada a solução de beta-ciclodextrina.

4.3.4 Determinação de carotenóides totais

O total de carotenóides foi realizada segundo Ranjith e colaboradores (2006) com modificações, para tanto, 1,0mL do óleo polpa de bocaiúva foi dissolvido em hexano P.A. (0,1 mg. mL^{-1}) e adicionado de solução NaCl 0,5 %(2 ml) e centrifugado por 10 minutos a 1.500 rpm.

Cerca de 250 µL do sobrenadante foi coletado, diluído em metanol e, realizada a leitura no espectrofotômetro a 460 nm (BIOTEK®, modelo Synergy HT). O resultado para a quantidade de carotenóides totais foi expresso em mg equivalente de β-caroteno.100 g^{-1}. Para o branco foi utilizado o metanol puro.

4.4 Avaliação do fator de proteção solar *in vitro*

A eficácia fotoprotetora *invitro* do ***i)*** óleo da polpa da bocaiúva*;* ***ii)*** formulação base e ***iii)*** formulação base aditivada com óleo da bocaiúva, foram avaliadas pelo espectrofotômetro equipado com detector tipo esfera de integração (UltravioletTransmittanceAnalyzer®, UV-2000S, Labspheres, US). As amostras **i, ii e iii,** foram aplicadas separadamente na face rugosa das placas de PMMA (poli-metilmetacrilato), na quantidade de 0,75 mg/cm^3. Esperou-se a secagem o filme formado, em temperatura ambiente (22,0 ± 2,0ºC), por 30 minutos.

Com as amostras devidamente secas nas placas, realizaram-se as leituras diretamente no equipamento, em nove pontos distintos, obtendo-se então os valores de absorbância (UV). O software do equipamento (UV2000), a partir dos valores obtidos das absorbâncias, calculou o Fator de Proteção Solar *in vitro*, o comprimento de onda crítico (λc) e a razão UVA/UVB. (COMITÉ DE LIAISON DES INDUSTRIES DE LA PARFUMERIE, 2007; COUTEAU *et al.*., 2007; FERRERO *et al.*, 2006; FERRERO *et al.*, 2010; PISSAVINI *et al.*, 1993; SPRINGSTEEN *et al.*, 1999; VELASCO *et al.*, 2008). A formulação utilizada está disposta na **Tabela 5**.

Tabela 5. Formulação Base FPS ~ 7

Composição	INCI	Concentração (p/p) %
Parsol MCx	Ethylhexyl Methoxycinnamate	1
Nipagin	Methylparaben	0,1
Tinosorb S	Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenol Triazine	0,7
Eusolex 4360	Benzophenona-3	1,5
Dry Flo PC	Aluminium Starch Ostenylsuccinate	1,5
Tween 80	Polysorbate 80	0,75
Nipazol	Propilparaben	0,1
Água Purificada qsp		100 ml

5. RESULTADOSE DISCUSSÃO

5.1 Caracterizações físico-químicas do óleo da polpa e do óleo da amêndoa da bocaiúva

5.1.1 Perfil de ácidos graxos do óleo da polpa e da amênoda por cromatografia gasosa

Na **Tabela 6** podemos constatar o perfil de ácidos graxos, expressos em porcentagem e desvio padrão na média da triplicata, obtidos por cromatografia gasosa do óleo da polpa e da amêndoa da bocaiuva.

Tabela 6. Perfil dos ácidos graxos do óleo da amêndoa e da polpa da bocaiúva

Classificação	Ácidos Graxos	Óleo da polpa (%)	Óleo da Amêndoa (%)
Saturado	C8:0 (ÁcidoCaprilico)	0.18 ± 0,01	-
	C12:0 (Ácido Láurico)	0.47± 0,01	-
	C 16:0 (Ácido Palmitico)	11.64± 0,05	10.98± 0,20
	C18:0 (Acido Esteárico)	2.35± 0,02	3.05± 0,08
Monoinsaturado	C16:1 (Ácido Palmitoleico)	0.72± 0,01	2.72± 0,02
	C18:1 (Ácido oléico)	78.10± 0,35	23.61± 0,02
Poliinsaturado	C18:2 (Ácido Linoleico)	5.88± 0,05	59.62± 0,20
	C18:3 (Ácido Linolenico)	-	0.18± 0,01
	C20:0 (ÁcidoAraquidônico)	0.63± 0,01	-

Os resultados analíticos demonstraram que o óleo da polpa e do óleo da amêndoa da bocaiúvaapresentam em sua composição diferentes tipos de ácidos graxos.

Após os ensaios, conforme os resultados dispostos na **Tabela 6** foi verificado que o óleo da polpa da bocaiúva em estudo apresentaconcentrações elevadas de ácido oléico (78%) e ácido palmítico

(11%) e os ácidos caprílico, láurico, palmitoléico, esteárico, linoléico (5,88%) e araquídico, perfazendo o valor de 10,25%, sendo este perfil muito compatível aos resultados obtidos por Hiane e colaboradores (1989).

O óleo da amêndoa da bocaiúva em estudo apresentou concentração maior de ácido linoleico e menor de ácido oleico (**Tabela 6**) quando comparado aos estudos realizados por outros autores. Porém, apresentou concentração similar de ácido palmítico e palmitoleico e em concentrações menores o ácido esteárico e linolênico. Por ser o óleo matéria-prima de origem vegetal, essas diferenças são consideradas naturais e decorremda variedade da planta, da época da colheita dos frutos, doprocessamento industrial ou das condições decondicionamento e armazenamento, visando à sua conservação (NASCIMENTO *et al*., 2008). Na **Tabela 7**, é possível visualizar a variação no óleo de oliva para a concentração do ácido oléico (55 – 83%) e o linoleico (3,5 a 21%).

O pequi, fruto típico da região do cerrado, possui perfil de ácidos graxos semelhantes tanto na polpa como na amêndoa, com predomínio dos ácidos graxos insaturados com 61,35% e 52,17%, respectivamente. O ácido oleico está presente em maior concentração na polpa, com 55,87%, sendo seguidopelo ácido palmítico (35,17%). Na amêndoa do pequi, predominam o ácido palmítico e oleico em quantidades praticamente iguais, 43,76 e 43,59%, respectivamente. Também, estão presentes: oácido linoleico com 5,51%, esteárico com 2,04%, palmitoleicocom 1,23%, sendo detectadas menores proporções de outros ácidos graxos (LIMA, 2008). Nota-seao avaliar os dados, que o perfil dos ácidos graxos da bocaiúva é mais semelhante ao do óleo de oliva.

Tabela 7. Composição de ácidos graxos dos óleos de oliva, açaí e abacate.

Ácido Graxo (%)	Óleo de oliva*	Óleo de açaí**	Óleo de abacate***
C 16:0 Palmítico	7,5 – 20	22,0	28,1
C 16:1 Palmitoléico	0,3 – 3,5	2,0	9,1
C 18:0 Esteárico	0,5 – 5,0	2,0	0,8
C 18:1 Oléico	55 – 83	60	45,7
C 18:2 Linoleico	3,5 – 21	12	15,4
C 18:3 Linolênico	0,9	Traços	0,8
C 20:0 Araquídico	0,6	2,5	nd

nd- Não-detectado. Fontes: *BRASIL (1979),**ROGEZ (2000),***FREITAS *et al.* (1993).

Segundo Rogez (2000), o óleo de açaí, da mesma forma que o óleo de oliva e abacate, é rico em ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados(**Tabela 7**).Os principais representantes dos ácidos graxos monoinsaturados (MUFA)são os ácidos graxos da família ômega-9, sendo o ácido oleico (18:1) o de maior importância nos alimentos. As fontes alimentares de MUFA são: azeite de oliva, óleos de canola e de amendoim, oleaginosas (nozes, amêndoas, castanhas, etc.), frutos como o abacate, açaí, tucumã e buriti. Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) são assim chamados por conterem duas ou mais insaturações, e o principal representante dos PUFAS são o ácido linolênico.

Os óleos de oliva e abacate, por suas características químicas relacionadas com a respectiva composição em matéria insaponificável, são utilizados tanto para consumo *in natura* quanto na indústria de cosméticos. Esses produtos conquistaram uma fatia nobre do mercado e são, em geral, comercializados com valor superior ao dos demais óleos vegetais.Avaliando as características do óleo da polpa da bocaiúva, é possível concluir que se trata de óleo nobre com elevado potencial para o mercado farmacêutico e cosmético e o óleo da amêndoa da bocaiúva com potencial para o desenvolvimento de emulsões cosméticas.

Gamez e colaboradores (2014) desenvolveu patente com uma mistura dos frutos da*Acrocomia crispa* e da *Acrocomia aculeata,* cujo depositante da patente é o Cent *Nacional Investigaciones Cientifica* e número de acesso primário no Derwent:2014-A37319. Na descrição da patente é citado "O ácido oléico, ácido linoléico e ácido linolênico estão presentes na planta na quantidade de 60-70%, 25-40% e inferior a 10% respectivamente. O ingrediente ativo utilizado na composição farmacêutica e cosmética para o tratamento e prevenção da inflamação aguda e crônica da hiperplasia benigna da próstata.

5.1.2 Determinação do índice de acidez, índice de iodo e o índice de refração

A seguir, estão apresentados os resultados obtidos para o índice de acidez expresso em % de ácido oleico, o índice de iodo e o índice de refração para o óleo da polpa de bocaiúva**(Tabela 8)** e o óleo da amêndoa da bocaiúva**(Tabela 9)**.

Tabela 8. Propriedades físico-químicas do óleo da polpa da Bocaiúva

Características Físico-químicas	Óleo dapolpa
Acidez em Ácido Oléico (%)	2,46±0,08
Índice de Iodo (g I_2/100g lipídeo)	73,25±0,10
Índice de Refração	1,463±0,04

Tabela 9. Propriedades físico-químicas do óleo da amêndoa da Bocaiúva

Características Físico-químicas	Óleo da amêndoa
Acidez em Ácido Oléico (%)	1,180±0,04
Índice de Iodo (g I_2/100g lipideo)	29,80±0,12
Índice de Refração	1,456±0,04

No que se refere ao índice de acidez, os resultados revelaram o estado de conservação dos óleos e gorduras. A estocagem por período prolongado e/ou sua exposição ao arpode favorecer reações de hidrólise com o aparecimento dos ácidos graxos livres. Dessa forma, é possível definir as características de identidade e a qualidade dos óleos. Esse é o primeiro passo para regulamentar um óleo vegetal. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, instrução normativa MAPA 49/2006, e da ANVISA (RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005) são determinados alguns requisitos para comercialização dos óleos comestíveis. A acidez máxima permitida para o óleos e gorduras refinadasé o valor de 0,6mg KOH/g e os óleos prensados a frio e não refinados, podem apresentar o valor máximo de 10 mg KOH/g (MAPA 49/2006).

O óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiúva utilizado para a elaboração deste projeto foram obtidos por prensagema frio e não são refinados. Dessa forma, o valor máximo de acidez permitido é 10mg KOH/g. Na titulação da amostra do óleo da polpa foram gastos 1,38 mg NaOH/g de óleo e na titulação do óleo da amêndoa foram gastos 0,66mg NaOH/g de óleo, estando de acordo com o limite estabelecido pelo Ministério Abastecimento Pecuária e Agricultura (MAPA 49/2006).Apesar dos valores baixos obtidos no presente trabalho para o óleo da polpa e da amêndoa da bocaiúva, Ciconine e colaboradores (2010), encontrou o valor de 11,42 % para o óleo da polpa da bocaiúva, demonstrando a importância de se adotar um padrão para a obtenção do óleo, desde sua colheita ao armazenamento, afim de tornar o produto comercializável.

A resolução RDC nº 270, Regulamento Técnico Para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetalda ANVISA predispõe:*"A utilização de óleo ou gordura de espécie vegetal que não é tradicionalmente utilizada como alimento pode ser autorizada, desde que seja comprovada a segurança de uso, em atendimento ao Regulamento Técnico Específico".*

Amaral (2007) obtevevalores similares às análises realizadas no presente trabalho, o resultado para o índice de iodo do óleo da amêndoa de 20 e para o óleo da polpa 84(g I_2/100g lipídeo) e para o índice de refração da polpa de 1,466. No presente estudo obteve-se índice de iodo de 73,25 (g I_2/100g

lipídeo) para a polpa; e 29,80 para o óleo da amêndoa de bocaiúva e índice de refração da polpa de 1,456.Estes resultados estão próximos do obtido neste projeto.

O Guia de Controle de Qualidade de produtos cosméticos da ANVISA (BRASIL, 2004) apresenta a determinação do teor de ácidos graxos, índice de peróxido como requisito na avaliação de sabonete, uma vez que esses contêm grande quantidade de ácidos graxos para sua fabricação.

A Farmacopéia Brasileira também apresenta os ensaios para a análise de óleo na seguinte monografia: "Ensaios físicos e físico-químicos para gorduras e óleos. Os ensaios descritos são: determinação da densidade relativa,temperatura de fusão, temperatura de solidificação, separação de ácidos graxos, índice de saponificação, índice de refração, índice de ésteres, índice de peróxidos, viscosidade, índice de acidez. Constam ainda duas especificações técnicas de óleos vegetais: óleo de amendoim e óleo de gergelim, ambos são óleos fixos refinados. De maneira geral, a legislação não apresenta especificidade para as características físico-químicas decontrole de qualidade de óleos vegetais com finalidade para uso externo.

Sabe-se que os lipídeos podem ser oxidados por diferentes caminhos: reação hidrolítica, oxidações enzimáticas, fotoxidação e auto-oxidação. Como contribuição, sugere-se que além da neutralização do óleo e das enzimas presentes, após a etapa de prensagem, seja adicionada a vitamina E (alfa-tocoferol), que é um constituinte natural no óleo da bocaiúva. Esse procedimento permitirá a preservação dosantioxidantes naturais, tais como o betacaroteno e os terpenos (RAMALHO & JORGE, 2006). Tal procedimento tem maior valor no caso do uso do óleo no desenvolvimento de produtos tópicos.

5.2 Atividade antioxidante

Foi realizada a determinação do potencial antioxidante do óleo da polpa da bocaiuva (DPPH e ORAC), a determinação de fenóis e carotenóides totais.Os resultados encontrados estão apresentados na **Tabela 10.**

No ensaio do DPPH a equação da reta obtida com o padrão de rutina foi $y= 1,91x +4,372$ e com coeficiente de determinação de 0,952.

Com o resultado obtido do %SRL foi calculado o IC_{50}, referente à concentração que apresenta 50% de inibição do radical DPPH. O IC_{50} obtido para o óleo da polpa da bocaiúva foi de 23,89. Roesler

ecolaboladores (2007) realizou um estudo do potencial antioxidante de alguns frutos do cerrado, porém, utilizou a casca, a polpa e a semente para os estudos. Os melhores resultados obtidos para o IC_{50}foram: extrato aquoso e etanólico de casca de pequi (17,98e 9,44 µg.mL^{-1}) extrato etanólicode sementes de cagaita (14,15 µg.mL^{-1}), extrato etanólico de sementes e casca de araticum (30,97 e 49,18 µg.mL^{-1}).

Tabela 10. Perfil da atividade antioxidante do óleo da polpa da bocaiúva

Determinação	**Valor obtido**	
DPPH	IC_{50} (µg.ml^{-1})	23,89
Fenólicos Totais	g/100g de amostra	2,69 ± 0,07
Atividade ORAC	µmol/ g de amostra	283,93 ± 4,27
Carotenóides totais	(mg eq. B-c/100g)	55,98 ± 1,50

Resultados expressos como média ± desvio padrão (triplicata)

Quanto menor o valor de IC_{50}, maior a ação antioxidante do extrato, uma vez que pequena quantidade de extrato é capaz de inibir a concentração inicial do radical DPPH em 50%, ou seja, inibir a oxidação do radical em 50%. O padrão de ácido ascórbico apresenta IC_{50} de aproximadamente 0,49 µg.ml^{-1} e o padrão da rutina de 4,14µg.ml^{-1}. O óleo da polpa da bocaiúva apresentou o valor de IC_{50} igual a 23,89.

A determinação da atividade ORAC lipofílica consiste de método complementar muito utilizado para confirmar a atividade antioxidante das amostras. O óleo da polpa da bocaiúva obteveatividade ORAC de aproximadamente 283,93 µmol/g de amostraou 42,02 µM eq. Trolox®. No levantamento bibliográfico realizado não foi encontrada análise da ação antioxidante para os óleos da bocaiúva, apenas para a polpa *in natura*, para o extrato alcoólico e o extrato seco da polpa da bocaiúva. No trabalho realizado por Ferreira e colaboradores (2013), o resultado para o seqüestro de radicais livres do extrato seco foi de 68,61% (**Tabela 11**), porém no trabalho não é citado o valor do IC_{50}, o que dificulta realizar comparações com o presente trabalho.

Tabela 11. Comparação da atividade antioxidante

Amostras	Atividade Antioxidante*
Extrato Seco de Bocaiúva	68,61%
Bocaiúva Polpa	71,38%
**Laranja Polpa	59,87%
** Maça polpa	88,30%
** Ameixa polpa	92,56%
** Kiwi polpa	96,09%

* % de Sequestro de radicais livres. ** Fonte: BERNARDES*et al.* (2011)

O resultado positivo obtido da atividade antioxidante por DPPH e atividade ORAC do óleo da polpa da bocaiúva, são reflexos da elevada quantidade de carotenóides totais e fenóis totais presentes no mesmo. O óleo da polpa em estudo apresentou o valor de fenóis totais de aproximadamente de 2,69g/100g, ou seja, 2690mg/100g, muito superior ao resultado obtido por Simas e colaboradores (2011) da fração de acetato de etila da casca da *Acrocomia aculeata*, queencontrou valor de 304,32µg EAG/mg de extrato de teores de fenóis totais. O óleo da polpa do pequi possui 209mg/100g de fenólicos totais,valores superiores aos encontrados na maioria das polpas de frutas consumidas no Brasil, como: açaí (*Euterpe oleracea*), com 136,8mg/100g; goiaba (*Psidium guayava*), com 83,1mg/100g;morango (*Gingo biloba*), com 132,1mg/100g; abacaxi (*Ananas sativa*), com 21,7mg/100g; graviola (*Anona muricato*), com 84,3mg/100g, e maracujá (*Passiflora edulis*), com 20,2mg/100g,sendo inferior apenas a acerola (*Malpighia glabra*), com580,1mg/100g, e a manga (*Mangifera indica*), com 544mg/100g (KUSKOSKI*et al.*, 2006;LIMA *et al.*, 2008).

Os resultados obtidos indicaram que a polpa da bocaiúva é insumocom elevada capacidade antioxidante, demonstrando acorrelação existente entre a quantidade de fenólicos totais e a proteção antioxidante, com potencial de ação em produtos antienvelhecimento.

Outro valor muito significativo encontrado no óleo da polpa da bocaiúva em estudo foi a concentração de carotenóides totais. O resultado obtido nessa determinação foi de aproximadamente de 55,98 mg/100g. Ramos e colaboradores (2008) determinou o betacaroteno na polpa integral, obtendo o valor de 49,0 ± 2,0 $\mu g.g^{-1}$e Hiane& Penteado (1989) também analisaram a polpa de bocaiúvapor cromatografia em coluna aberta e obtiveram o valor de 59,41 ± 11,09 µg.g–1. Não foi encontrada na literatura a quantificação de carotenóides totais no óleo da polpa da bocaiúva. Para esses resultados da polpa, RAMOS e colaboradores (2008) constatou que o teor de betacaroteno da polpa da bocaiúva foi superior ao encontrado em outros frutos do cerrado do pantanal sul-mato-grossense. Para as polpas comestíveis de pindó*(ArecastrumromanozoffianumBecc.)*, bacuri (*Scheeleaphalerata Mart*.), pequi

(*Caryocar brasiliense Camb*.) e caraguatá (*BromeliabalansaeMez*) foram detectados 36,6; 17,3; 14,7 e 0,5 µg.g^{-1}de amostra úmida de betacaroteno (RAMOS *et al., 2008).*

5.3 Avaliação da atividade fotoprotetora do óleo da bocaiúva

Foram realizados testes preliminares para avaliar a ação fotoprotetora do óleo da amêndoa, da polpa da bocaiúva; da formulação edo óleo incorporado a uma formulação.Os resultados estão apresentados nas **Tabelas 12.** O óleo da amêndoa apresentou FPS 1 com razão UVA/B de -0,125 e não foi disposto em tabela.

Tabela 12. Média dos valores obtidos para a avaliação da atividade fotoprotetora do óleo da polpa da bocaiúva

AMOSTRA	FPS Médio ± DP	(λc) crítico (nm) médio	Razão média UVA/B
FPS OLP	4,0 ± 3,40	370	0,43
FPS FOR	7,0 ± 1,65	377	0,85
FPS OLP + For	17,0 ± 2,20	379	0,83

*Legenda:***FPSOLP** = Fator de proteção solar do óleo da polpa; **FPS FOR =** Fator de proteção solar da formulação;**FPS OLP + FOR =** Fator de proteção solar óleo da polpa + formulação

Nas revisões de literatura realizadas para a elaboração do presente trabalho, constatou-se que não foi publicado trabalhos revelando a potencial ação fotoprotetora do óleo de bocaiúva. Embora o presente trabalho tenha como objetivo principal o desenvolvimento de plataforma nanotecnológicaempregando o óleo da bocaiúva, o conhecimento de tais propriedades é de fundamental importância para o desenvolvimento de formulações fotoprotetoras.Os resultados obtidos para a avaliação da atividade fotoprotetora do óleo da polpa de bocaiúva foram positivos e significativos,e embora o valor obtido para o óleo da polpa de FPS 4 ser baixo, a razão UVA/UVB de 0,43, os resultados demonstraram moderada **(Quadro 1)** proteção à radiação UVA, que é satisfatório. Essa radiação possui maior penetrabilidade através da pele, promovendo os danos celulares (VELASCO *et al.*,2011). O óleo com a formulação obteve a razão UVA/B de 0,83, obtendo-se na escala do Sistema Boot´s Star Rating Rating a descrição máxima **(Quadro 1)**. Tal resultado indicou sinergia entre o óleo de polpa e formulação, uma vez que potencializou a ação fotoprotetora.

Quadro 1. Sistema Boot´s Star Rating Rating relacionado com a razão UVA/B conforme RevisedGuindle (in VELASCO *et al*, 2011).

	Proteção AntiUVA	
Razão UVA	Estrelas	Descrição[a]
0,0 até < 0,2	-	Muito baixa
0,2 até < 0,4	*	Moderada
0,4 até < 0,6	**	Boa
0,6 até < 0,8	***	Superior
0,8 até < 0,9	****	Máxima
≥ 0,9	*****	Ultra

[a]Descrição da relação da razão UVA/B (proteção a esta radiação) com a quantidade de estrelas

Para o desenvolvimento farmacotécnico de filtros solares acima de FPS 30, sabe-se que é utilizado eleva quantidade de óleos para promover a dispersão dos filtros físicos. A utilização de óleo que tenha como propriedade a fotoproteção pode ser um excelente coadjuvante farmacotécnico, pois também auxiliará na dispersão do filtro físico (SURMAN, 2009). Os resultados sugerem importante sinergismo entre o óleo da polpa da bocaiuva e a formulação em estudo.

5.4 Calculo EHL crítico óleo da amêndoa e da polpa da bocaiúva

Tabela 13. Formulações desenvolvidas com óleo da amêndoa da bocaiúva como fase oleosa, em função da determinação do valor EHL.

Amostra	% Mono-oleato de sorbitano	(g)	% Monoestearato de sorbitano	(g)	Óleo (ml)	Água (ml)	E.H.L	Aparência da Emulsão	Após Centrífuga
1	90	0,45	10	0,05	1,0	8,5	5,73	Excelente	Excelente
2	80	0,40	20	0,10	1,00	8,5	6,76	Boa	Leve Separação
3	70	0,30	30	0,15	1,0	8,5	7,79	Grumos	N.R
4	60	0,30	40	0,20	1,0	8,5	8,82	Grumos + Separação Fase	N.R
5	50	0,25	50	0,25	1,0	8,5	9,85	Grumos + Separação Fase	N.R
6	40	0,20	60	0,31	1,0	8,5	10,88	Grumos + Separação Fase	N.R
7	30	0,15	70	0,35	1,0	8,5	11,91	Grumos + Separação Fase	N.R

Referência	**Valor**
EHL Mono-oleato de sorbitano	4,700
EHL Monoestearato de sorbitano	15,000

Legenda:
N.R. = Não realizado

Após o preparo destas pré-emulsões, aguardou-se o período de 24 horas para visualizar se havia ocorrido separação de fase e na seqüência realizou-se o teste na centrifuga, por 30 minutos a 3000 rpm. O EHL encontrado para o óleo da amêndoa da bocaiúva foi de 5,73. Na **Tabela 14** estão apresentadas as formulações desenvolvidas com óleo de amêndoa como fase oleosa, em função da determinação do valor EHL.

Tabela 14. Cálculo EHL para o óleo da polpada bocaiúva

Amostra	Mono-oleato de polioxietileno - sorbitan% (p/p)	(g)	Monoestearato de sorbitano % (p/p)	(g)	Óleo	Água (p/p)	E.H.L	Aspecto após centrífuga
1	90	0,45	10	0,05	1,0	8,5	5,73	Poucos grumos, mais líquida, mas sem separação de
2	80	0,40	20	0,10	1,0	8,5	6,76	Houve separação
3	70	0,35	30	0,15	1,0	8,5	7,79	Houve separação
4	60	0,30	40	0,20	1,0	8,5	8,82	Houve separação

Um dos sistemas de liberação mais comuns para a aplicação tópica de medicamentos e cosméticos são as emulsões. Essasem geral possuem custo baixo para produção, são bem aceitas pelos consumidores por suas características físico-químicas e boa compatibilidade para incorporação de insumos farmacêuticos e cosméticos. Para a produção desses sistemas e a manutenção de sua estabilidade, é necessáriaa seleção criteriosa de seus componentes, visando obter e manter sua eficácia e segurança. Suas características devem incluir a fácil aceitação ao consumidor, boa aparência estética (MORAIS, 2006), e por serem sistemastermodinamicamente instáveis e com alta tensão interfacial, a seleção detensoativos adequados é de suma importância para a sua estabilização (MORAIS, 2006; FORMARIZ*et al.*, 2005; ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2013).

Emulsões contendo óleos vegetais são utilizadas como veículos para diferentes tipos de fármacos, especialmente as de aplicação tópica. Além disso, muitos óleos vegetais apresentam atividade terapêutica. Dessa forma, faz se necessário o desenvolvimento de sistemas de liberação adequados para esses óleos. ZANIN e colaboradores (2002)determinou o cálculo de EHL para óleos de origem vegetal. O valor, para os óleos avaliados foi de aproximadamente de6,76. Porém, o óleo da polpa e da amêndoa da bocaiúva apresentaram, no presente estudo, EHL inferior a este, de 5,73 (**Tabelas 13 e 14**).

O equilíbrio hidrófilo-lipofílico ou EHL consiste de abordagem metodológica desenvolvida por *Griffin*, em 1954. Nessa abordagem, os tensoativos ou emulsivos são classificados com base em sua constituição química e a cada componente é atribuído um valor de EHL, indicando a polaridade da substância. Os tensoativos mais utilizados no desenvolvimento de emulsões possuem faixa usual de 1 a 20, sendo queàqueles com valores de EHL entre 3 e 6, são altamente lipofílicos e produzem emulsões do tipo água em óleo e àqueles entre 8 e 18 produzem emulsões óleo em água.

Além de classificar os tensoativos de acordo com sua polaridade, este sistema desenvolvido por Griffin(1954) determina a quantidade dos mesmos necessários para se estabilizar uma emulsão, por meio da compatibilização do EHL do tensoativo com o da fase oleosa (ANSEL, POPOVICH& ALLEN, 2013). Ostensoativos podem ser combinados em proporções distintas e na soma final, aproxima-se do EHL em que a emulsão apresentou-se estável.

Para o desenvolvimento de emulsões cosméticas estáveis (ausência de separação das fases) formuladas com os óleos do fruto da bocaiúva, o EHL deve ser o mais próximo de 5,73.

6 CONCLUSÕES

O óleo da polpa da bocaiúva apresentou característicasfísico-químicas nobres, tais como, alto teor de ácidos graxos insaturados, compostos antioxidantes (fenóis e carotenóides) e ação fotoprotetora. Tais atributos revelam elevado potencial deste óleo para aplicação no setor farmacêutico e cosmético, principalmente em formulações com ação antioxidante, cicatrizante, hidratante, emoliente e fotoprotetoras.

O óleo da amêndoa da bocaiúvaapresentou composição rica em ácidos graxos insaturados, com elevado potencial para o desenvolvimento de emulsões, nanoemulsões e nanocarreadores lipídicos.

Recomenda-se que os parâmetros para os óleos sejam estabelecidos e assim definir um padrão de qualidade para que os mesmos possam ser utilizados de forma comercial. Também se recomenda que para utilizá-los na área farmacêutica e cosmética, a extração dos óleos deve ser realizada à frio, sem uso de solvente. Para que sejam de boa qualidade, todas as etapas devem ser cuidadosamente avaliadas, para que não incorra no aumento da acidez do óleo. Também se recomenda que para o uso com finalidade cosmética, seja adicionada a vitamine E logo após a extração do óleo, preservando os compostos naturais com ação antioxidante.

.

7 REFERÊNCIAS

ABDI - Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial. Estudo Prospectivo – **Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos**. Série Cadernos da Indústria ABDI, v. XIII, Brasília, 2009. 347p.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução RDC n. 270, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento Técnico para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal**. Diário Oficial da União, Brasília, 23 de Setembro de 2005.

ANSEL, H.C., POPOVICH, N.H.; ALLEN JR., L.V. Farmacotécnica – **Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos**, *S*ão Paulo: Premir, 2013, p. 299 – 311 p. 398 – 423.

AMARAL, V. R. do. Coopercana: Um símbolo de persistência e esperança. In: MORENO, Camila; ORTIZ, Lucia. **Construindo a Soberania Energética e Alimentar. Experiências autônomas de produção de combustíveis renováveis da agricultura familiar e de enfrentamento do agronegócio da energia**. Porto Alegre: Núcleo Amigos da Terra/Brasil, p. 25-41, 2007.

AMARAL, F. P. Estudo das características físico-químicas dos óleos da amêndoa e polpa da macaúba [Acrocomia aculeata (jacq.) Lodd. ex mart]. 2007. 52f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Concentração em Energia na Agricultura) Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Botucatu, 2007. Disponível em: http://www.fca.unesp.br/pos_graduacao/Teses/PDFs/Arq0213.pdf>. Acesso em: 01/05/2015.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. Official and Tentative Methods, Champaign, AOCS. Disponível em: http://www.aocs.org/index.cfm. Acesso em 10 janeiro de 2012.

ARBOLES Del.**Area Del Canal de Panamá *Acrocomiaaculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart**. Disponível em:<http://www.ctfs.si.edu/webatlas/spanish/acropa.html> Acesso em: 18 jul. 2005.

BERNARDES, N. R. et al. Atividade antioxidante e fenois totais de frutas de campos dos Goytacazes RJ.**Revista perspectivas online**, v. 1, n. 1, p. 55-57, 2011.

BONDAR, G. **Palmeiras do Brasil.** São Paulo: Instituto de Botânica, São Paulo, n. 2, p. 50-554, 1964.

BONDAR, G. Palmeiras do Brasil. Disponível em http://www.bibvirt.futuro.usp.br/especiais/frutasnobrasil/macauba.html. Acesso em abril de 2013.

BRASILL. Resolução-RDC nº 482. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais.** Diário Oficial da União. Poder Executivo, Brasília, DF, 13 out, 1979.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Brasília, DF: ANVISA; 2004. p52.

CICONINI, G.; FAVARO, S.P.; SOUZA, C.F.T.; MIYAHIRA, M.Q.M.; CORREA, A.; PLEIN, G.S.; SOUZA, J.L.C.; SANTOS, G.P. Óleo de polpa da macaúva: variabilidade das características físico-químicas em plantas em Mato Grosso do Sul. **VI Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleagionosas Energéticas**, João Pessoa, Paraíba, 2010.XXp.

CICONINI, G; FAVARO, S. P.; ROSCOE, R.; MIRANDA, C. H. B.; TAPETI, C. F.; MIYAHIRA, M. A. M.; BEARARI, L.; GALVANI, F.; BORSATO, A. V.; CONALGO, L. A.; NAKA, M. H. Biometryandoil contentes of*Acrocomiaaculeata*fruitsfromthe Cerrados and Pantanal biomes in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Industrial CropsandProducts,**v. 45, p. 208–214, 2013.

COMITÉ DE LIAISON DES INDUSTRIES DE LA PERFUMERIE. COLIPA. **Method for the *in vitro* determination of UVA protection provided by sunscreen product.** Brussels, 2007. Disponível em: http://www.colipa.eu. Acesso em: 17 de set. 2011.

COUTEAU, C.; FAURE, A.; FORTIN. J.; PAPARIS EVA.; COIFFARD L.J.M. Study of the photostability of 18 sunscreen in creams by measuring, the SPF *in vitro*. **JournalofPharmaceuticalandBiomedicalAnalysis,** v.44, p.270-273, 2007.

ENRIQUEZ G. a lenta marcha da relação universidade – empresa em produtos naturais e biotecnológicos no Brasil. Disponível em:http://www.anppas. org.br/encontro_anual/encontro2/GT/GT02/GTgonzalo_ enriquez.pdf. Acesso em 21/03/2014.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4.ed.São Paulo:Atheneu. Parte 1.p.XII.2-16, 1988.

FERREIRA, A. O. **Guia Prático da Farmácia Magistral**. Juiz de Fora, 2000. p.169-170.

FERREIRA, A.N.; SANTOS, C.P.A.; COSTA, G.L.A.; SATER, G.K. Utilização do Extrato da Bocaiúva (*Acrocomiaaculeata)* como um alimento funcional tipo *Shake.***Interbio**, v.7 n.1, p. 61-71, 2013.

FERRERO, L.; PISSAVINI, M.; DEHAIS, A.; MARGUERIE, S.; ZASTROW, L. Importace of substrate roughness for *in vitro* sun protection assessment. **International Federation of Societies of Cosmetic Chemist Magazine,** v.9, n.2, p. 1-13**,**2006.

FERRERO, L.; PISSAVINI, M.; DOUCET, O. How a calculatesmodelo f sunscreen film geometry can axplain*in vitro* and *in vivo* SPF variation. **Photochemical &Photobiological Sciences,** v.9, p. 540-551, 2010.

FORMARIZ, T.P.; URBAN, M.C.C.; JUNIOR, A.A.S.; GERMIAO, M.P.D.; OLIVEIRA, A.G. Microemulsão e fases líquidas cristalinas com sistemas de liberação de fármacos. **RevistaBrasileira de CiênciasFarmacêuticas**. v. 41, n. 3, p. 301-313, 2005.

FORTES, I. C. P.: BAUGH, P. J. Study of analytical on-line pyrolyses of oils from

*Macauba*fruit (*Acrocomiasclerocarpa*).**Journal of the Brazilian Chemical Society**,Campinas., v. 10, n. 6, p. 469-477, 1999.

FREITAS, S.P.; LAGO, R.C.A.; JABLONKA, F.H.; HARTMAN L.Extractionaqueuseenzymatique de l'huiled'avocat a partir de lapulpefraîche. **RevueFrançaisedesCorpsGras**, v.41, n.11/12, p. 365-371, 1993.

FRUITS. **FromAmerica: anethnobotanicalinventoryof*Acrocomiaaculeata***.Disponível em: http://www.ciat.cgiar.org/ipgri/fruits_ from_americas/frutales/Acrocomiaaculeata.htm. Acesso em: 8 setembro. 2005.

GALVANI, F.; FERNANDES, J. Extração mecânica da polpa da bocaiuva coletada na região de Miranda, MS. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2010 5 p. (Embrapa Pantanal. Circular Técnica, 93). Disponível em: http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT93.pdf Acesso em: 30/05/2016

GAMEZ M. R.;GONZALES C.V. L.;MAS FERREIRO R. M.; MOLINA C.V.;OYARZABAL Y.A.;PEREZ G. Y.,RODRIGUEZ L. E. A.;SIERRA P.D. L. C.Active ingredient used in pharmaceutical composition and cosmetics for treating and preventing acute and chronic inflammation, and benign prostate hyperplasia, is obtained from fruits of *Acrocomiacrispa* or *Acrocomiaaculeate*.**CENTRO NACIONAL INVESTIGACIONES CIENTIFICA**.(NAIN-Non-standard) Patente nº: WO2013189467-A2, 2014.

GARRIDO, J. **Biodiesel permitirá corte em importação de óleo**. Disponível em: htpp://www.emater.pr.gov.br/noticias/noti009.html. Acesso em: 24 mar 2005.

GRAY, M. **Palm andCycadSocietiesofAustralia**. Disponível em: http://www.pacsoa.org.au/palms/Acrocomia/aculeata.html. Acesso em: 20 set. 2012.

GRIFFIN, W. C. Classification of Surface-Active Agents by "HLB". **Journal of The Society of Cosmetic Chemists**, v.1, p. 311-326, 1949.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Field Guide to the Palms of the Americas**. New Jersey: Princepton University, p.166-167, 1995.

HIANE, P. A.; PENTEADO, M. V. C. Carotenóides e valor de vitamina A do fruto e da farinha de bocaiúva (AcrocomiamokayáybaBarb. Rodr.) do Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista de Farmácia Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 25, n. 2, p. 158-168, 1989.

HIANE, P.A.; RAMOS, M. I. L., RAMOS FILHO, M. M., MACEDO, M.L. Óleo da polpa e amêndoa de bocaiúva, *acrocomiaaculeata* (jacq.) lodd. Caracterização e composição de ácidos graxos.**BrazilianJournalofFoodTechnology**,v.8, n.3, p. 256-259,2005.

HIANE, P. A.;BALDASSO, P.; MARAGONI, S.; MACEDO, M, L, R.A Chemical and nutritional evaluation of kernels of bocaiuva, *Acrocomiaaculeata (Jacq.) Lodd.***Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 683-689, 2006.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; MORALES, M.T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1283-1287, 2006.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade *antioxidante in vitro e in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocarbrasiliense,*Camb.).** 2008. 219p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

LLERAS, E.; CORADIN, L. **La palma macauba (Acrocomiaaculeata) como fuente potencial de aceite combustible**. San José: FAO/CATIE. p.102-122, 1988.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas ativas do Brasil**. Nova Odessa, São Paulo:InstitutoPlantarum, 1992.352p.

LORENZI, H. **Palmeiras do Brasil: exóticas e nativas**. Nova Odessa Plantarum, p.1-20, 1996..

LORENZI, G.M.A.C.***Acrocomiaaculeata*(Jacq.) Loddex Mart - Arecaceae: bases para o extrativismo sustentável**. 2006. 156p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná,Curitiba, 2006.

MANZANO, R. **Óleo de macaúba avança no mercado** Disponível em:htpp://www. br.groups.yahoo.com.br/group/ecirtec/message/216 Acesso em 18 mar 2005.

MAPA. (2006). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – **Instrução identidade e qualidade de óleos vegetais refinados**. Diário Oficial da União de 26/12/2006, Seção 1, 140p. Disponível em:http://www.azeiteonline.com.br/wp-content/uploads/2011/04/anvisa-instrucao-normativa-49-de-22-12-2006-oleos-vegetais.pdf. Acesso em 10 de fevereiro de 2014.

MIRANDA, I.P.A.; RABELO, A.; BUENO, C. R.; BARBOSA, E. M.; RIBEIRO, M. N. S. **Frutos de Palmeiras da Amazônia**. Manaus: MCT INPA, p.7-10, 2001.

MORAIS, G.G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidas de xantina para o tratamento da hidrolipodistrofiaginóide (celulite).**2006. 181p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

MONTEZANO, Z. F.; CORAZZA, E. J.; MURAOKA, T. Variabilidade espacial da fertilidade do solo em área cultivada e manejada homogeneamente. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.30, n.5, p.839-847, 2006.

MOTTA, P.E.F.; CURI, N.; OLIVEIRA-FILHO, A.T.; GOMES, J.B.V. Ocorrência da macaúba em Minas Gerais: relação com atributos climáticos, pedológicos e vegetacionais. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.37, n.7, p. 1023-1031, 2002.

NASCIMENTO, R.J.S.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S.P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano.**Revista Brasileira de Fruticultura,** v.30, n.2, p. 498-502, 2008.

PISSAVINI M.; FERRERO, L.; ALARD, V.; HEINRICH, U.; TRONNIER, H.; KOCKOTT, D.; LUTZ, D.; TOURNIER, V.; ZAMBONIN, M.; MELONI, M. Determinationofthe*in vitro* SPFPOZO-DÍEZ, R. M. **Estudiodelproceso de fritura de alimentos frescos y congelados prefritos. Comportamento del aceite de semilla de girasol de alto contenidoenacido oleico**. Faculad de farmácia, p. 338, tesis, Unsversidad de Alcalá de Henares, 1995.

POTT, A.; POTT, V.J. **Plantas do Pantanal**. Corumbá: Embrapa Pantanal,1994. 320p.

PRESTES P.S.; SCORISA J.M.; GUIMARAES GN; OLIVEIRA TA; PIRES-DE-CAMPOS M.S.M; POLACOW MLO; NASCIMENTO G.G.F; CHORILLI M.; LEONARDI G.R. Desenvolvimento e comportamento reológico de formulações cosméticas contendo cristais líquidos. In: **Anais do 21º Congresso Brasileiro de Cosmetologia. 2007 Mai 15-17. São Paulo –SP:** Associação Brasileira de Cosmetologia, 2007. (CD-ROM).

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.10, p.4290-4302, 2005.

RANJITH, A.; KUMAR, K.S.; VENOGUPALAN, V.V., ARUMUGHAN, V.; SHAWNEY, R.S.; SINGH, V. Fatty acids, tocols, and carotenoids in pulp oil of three sea buck thorn species (Hippophaerhamnoides, H. salicifolia, and H. tibetana) grown in the Indian Himalayas**. Journal of the American Oil Chemists Society,** v.83, n.4 p 359–364, 2006.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **QuímicaNova**, v. 29 n.4, p. 755-760, 2006.

RAMOS, M. I. L.; SIQUEIRA, E.M.A.; ISOMOURA, C.C.; BARBOSA, A.M.J; ARRUDA, S.F. Bocaiuva (*Acrocomia aculeata*) improved Vitamin A status in rats.**Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.22, n.8, p. 3186-3190, 2007.

RAMOS, M.I.L. ; RAMOS FILHO, M.M. ; HIANE, P.A.; BRAGA NETO, J.A.; SIQUEIRA, E.M.A.Qualidade nutricional da polpa de bocaiúvaAcrocomiaaculeata(Jacq)*Lodd.***Sociedade Brasileira de*Ciência*e Tecnologia de*Alimentos***, v. 28, p. 90-94, 2008.

ROESLER, R.; MALTA, L.; CARRASCO L.; HOLANDA, R.; SOUSA, C.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado.**Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v.27, n.1, p. 53-60, 2007.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. Belém: Universidade Federal do Pará, 2000, 313p.

RUFINO M.S.M.; ALVES R. E.; BRITO E. S.; MORAIS S. M.; SAMPAIO C. G.; FULGENCIO J.P.; CALIXTO D.S.Metodologia Científica: Determinação da Atividade

Antioxidante em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico Online – Embrapa.** Fortaleza-CE ISSN 1679-6535. Julho, 2007.

SALIS, S. M.; JUARACY, A. R. da M. **A utilização da bocaiúva no Pantanal**.

Disponível em: htpp.//www.portaldoagronegocio.com.br Acesso em: 16 dez. 2005.

SANTOS, J.V.G.; MACHADO, W.; LIRA, F.L.; TAKAHASHI, S.A.L.; GUIMARÃES, M.F.;LEAL, A.C. BBR – BiochemistryandBiotechnologyReports - v. 2, n. 3, p. 14-16, 2013.Disponível em: http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/bbr/article/viewFile/15630/12878. Acesso em 23 de março de 2014.

SANTOS JÚNIOR & JEAN FERNANDES. **Técnicas e dicas de aproveitamento da Bocaiúva**, Campo Grande-MS: Ecoa,44p. 2012.

SCARIOT, A. O.; LLERAS, E.; HAY, J.D. Reproductive biology of the palm *Acrocomia aculeate* in Central Brazil. **Biotropica**,v.23, n. 1, p.12-22, 1991.

SCARIOT, A. O.; LLERAS, E.; HAY, J. D. Flowering and fruiting phenologies of the palm *Acrocomiaaculeata*: patterns and consequences. **Biotropica**, v. 27, n. 2, p. 168-173, 1995.

SILVA, J. C. **Macaúba: fonte de matéria-prima para os setores alimentício, energético e industrial. Viçosa**, 1994, 41p. Trabalho de conclusão da disciplina Cultivo de essências exóticas e nativas. Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa.

SILVA, J.A. *et al.*. **Frutas nativas do cerrado**.Brasília, DF: EMBRAPA, Centro de Pesquisa agropecuárias dos Cerrados – CPAC, 1994a. 166p.

SILVA, J.C. **Macaúba: fonte de matéria prima para os setores alimentício, energético e industrial**. Viçosa: CEDAF/DEF/UFV, 1994b. 41 p.

SILVA, M.R; LACERDA, D.B.C.L.; SANTOS, G.G.; MARTINS, D.M.O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**. v.38, n.6, p. 1790-1793, 2008.

SIMAS, P.H.; CABRAL, M.R.P.; FACCO, J.T.; ANDREIO, M.O.G.; SANTINE, G.P.T.; SIMIONATO, E. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da *Acrocomiaaculeata* (Jacq.) Loff. Ex. Mart. E *Tamarindus indica L*. **1ª Jornada Científica,** Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), 2011. CD-ROM.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.;LAMUELARAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, [S.l.], v. 299, p. 178-184, 1999.

SOARES, J. D. R.; RODRIGUES, F. A.; PASQUAI, M.; NUNES, C. F.; ARAUJO, A germinação de embriões e crescimento inicial*invitro*de macaúba.**Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.5, p.773-778, 2011. Disponívelem:http://www.scielo br/scielo.php?pid= S010384782011005000040 &script= sci_arttext. Acesso em: 28 abr. 2011.

SPRINGSTEEN, A.; YUREK, R.; FRAZIER, M.; CARR, K.F. In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance. **AnalyticaChimica Acta,** v. 380, p.155-164, 1999.

STAZIONE SPERIMENTALE PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI (S.S.O.G.) – Comissione Técnica Per Le Industrie Degli Oli Vegetali, Grassi Vegetali, ed Animali, delle Proteine Vegetali, degli Oli Minerali, dei Colori e Vernici, dei Detergenti e Tensoattivi, dei Prodotti Cosmetic e dei Igiene Personale.**Norma Italiane per il Controllo dei Grassi e Derivati,** Milano, 1976.Xxxp? Ou acesso na internt

SURMAN, L. L. Potencialidades de Veículos Microemulsionados para Fotoprotetores Físicos. **Latin American JournalofPharmacy**, v. 28, n. 1, p. 133-140, 2009.

SZPIZ, R. R.; LAGO, R. C. A.; JABLONKA, F. H.; PEREIRA, D. A. Óleos de macaúba: uma alternativa para a oleoquímica. **EMBRAPA- CTAA.Comunicado Técnico, 14.**Rio de Janeiro: 1989. p.1-10.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. Campinas: NEPA-UNICAMP; 2011, 161p. Disponível em http://www.unicamp.br/nepa/taco/ contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada. Acesso em 10 de janeiro de 2013.

TICKEL, J.**From the fryer to the fuel tank: the complete guide to using vegetable oil as an alternative fuel**. Florida: Tickel Energy Consulting, 2000. 155p.

VELASCO, M.V.R.; BALOGH, T.S.; PEDRIALI, C.A.; SARRUF F.D.; PINTO,C.; KANEKO, T.M.; BABY, A.R. Associação da Rutina com *p*-Metoxicinamato de Octila e Benzofenona-3: Avaliação *In Vitro* da Eficácia Fotoprotetora por Espectrofotometria de Refletância**. Latin American JournalofPharmacy,**v.27 n.1, p. 23-7, 2008.

VELASCO, M.V.R.; BALOGH, T.S.; PEDRIALI, C.A.; SARRUF F.D.; PINTO,C.; KANEKO, T.M.; BABY, A.R. Novas metodologias analíticas para a avaliação da eficácia fotoprotetora (*in vitro)* –revisão. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada,**v.32, n.1, p. 23-34, 2011.

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, n. 1, p. 13-18, 2002.

CAPÍTULO II

SISTEMAS NANOESTRUTURADOS POLIMÉRICOS E CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS CONTENDO ÓLEO DA POLPA E ÓLEO DA AMÊNDOA DA BOCAIÚVA (*Acromica aculeata)*

RESUMO

Diferentes produtos farmacêuticos e cosméticos nanoestruturados estão disponíveisno mercado, como os lipossomas, as nanoemulsões, as nanopartículas poliméricas e as nanopartículas lipídicas, ou ainda, na forma de estruturas inorgânicas, tais como o dióxido de titânio e o dióxido de zinco.O tamanho, em escala nanométrica, confere ao material propriedade físico-química ou biológica diferenciada quando comparadas àquelas relativas ao material convencional. Nesse sentido, é possível alcançar melhorias físicas do produto como espalhabilidade e oclusividade; modulação da permeação de princípios ativos cosméticos por meio das diferentes camadas da pele; proteção quando incorporadas na formulação cosmética frente à degradação química ou enzimática, ou ainda, no direcionamento a sítio específico na pele. Tendência no desenvolvimento de formulações refere-se à utilização de matérias-primas de origem vegetal que possam agregar valor ao produto, que associem biodiversidade, tecnologia e inovação. A composição do óleo da bocaiuva, fruto exótico da região central do Brasil, apresenta elevado potencial para a aplicação em produtos tópicos nanoestruturados, (farmacêuticos e cosméticos) com ação hidratante, antienvelhecimento e fotoproteção. O óleo da polpa da fruta constitui-se de alto teor de ácidos graxos insaturados, com predominância de ácido oleico, alcançando 60% de sua composição, além de betacaroteno e de fenóis. O óleo da amêndoa apresenta, além do ácido oléico (40%), o ácido láurico (13%) e ácido palmítico (12%). No presente estudo foi possível desenvolver sistemas nanocarreadores lipídicos (NCL) utilizando como lipídeo líquido os óleos extraídos do fruto da bocaiúva. Os NCls contendo óleo da polpa apresentaram diâmetro hidrodinâmico médio (DHM) de 127 ± 3.80 nm, índice de polidispersividade (PdI) 0.18 ± 0.02 e potencial zeta (P_z) de -47.05 ± 7,10 mV e da amêndoa o DHM de 131.3 ± 5,85 nm, PdI de 0.16 ± 0.00 e P_z de -44.73 ± 0.60 mV. Adicionalmente, esses sistemas apresentaram ação direta no aumento da fotoproteção em formulações base de FPS. Esses resultados demonstraram que os sistemas desenvolvidos constituem plataforma tecnológica com potencial utilização como carreadores de fármacos lipossolúveis. Além disso, essa plataforma pode ser utilizada como importante coadjuvante potencializador de formulações fotoprotetoras.

Palavras-chave: nanotecnologia; sistemas nanoestruturados; óleo da polpa de bocaiúva e nanotecnologia; óleo da amêndoa da bocaiúva; óleo vegetal e sistemas nanoestruturados.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Nanocarreadores Lipídicos

Os nanocarreadores lipídicos (NCL) são a segunda geração das nanopartículas lipídicas que surgiram para aprimorar as nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) (MÜLLER, 2007; BELOQUI *et al.*, 2016). As nanoparticulas sólidas utilizavam lipídios muito semelhantes formando estruturas com alta organização dos cristais, o que promovia baixo encapsulamento dos ativos. A mistura de lipídios sólidos e líquidos nos NCLs propiciou a formação de estrutura menos ordenada e assim permitiu aumentar a quantidade de fármaco encapsulado (MÜLLER, RADTAKE, WISSNIG, 2002). Dependendo dos lipídios utilizados é possível originar três diferentes estruturas: mistura de glicerídeos compostos por diferentes ácidos graxos, conhecido como NCL imperfeito; mistura de lipídios no estado sólido com lipídios líquidos, conhecido como NCL amorfo; dispersão de óleo em lipídio sólido em água, conhecido como "múltiplo NCL" **(Figura 1)** (ÜNER, RADTKE, WISSING, 2007; JENNING, MÄDER, GOHLA, 2000).

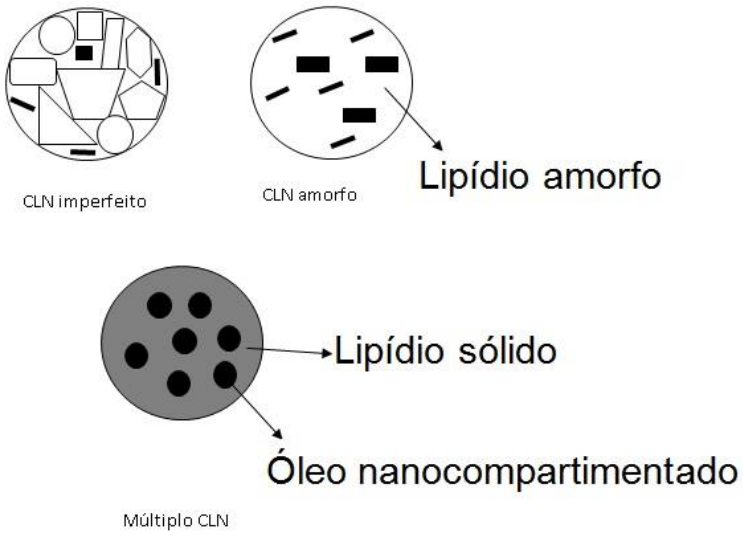


Figura 1. Diferentes carreadores lipídicos nanoestruturados.

Fonte: MÜLLER, RADTAKE, WISSNG, 2002.

No NCL imperfeito, a mistura de diferentes ácidos graxos promove aumento da distância entre as cadeias dos glicerídeos, ocasionando imperfeições no cristal. Estas imperfeições acabam por gerar mais espaço para acomodar o ativo, aumentando a taxa de encapsulamento (ÜNER, RADTKE, WISSING, 2007;JENNING, MÄDER, GOHLA, 2000).

No NCL amorfo, a alta quantidade de óleo misturado ao lipídio sólido formam partículas amorfas, cuja estrutura evita a expulsão do ativo das partículas no processo de estocagem, já que não existe a transição do lipídio para o estado beta (ÜNER, RADTKE, WISSING, 2007; JENNING, MÄDER, GOHLA, 2000). A principal característica na sua formação é de alguns lipídios não recristalizarem após o resfriamento. No entanto, devido ao excesso de solubilidade das moléculas de óleo no lipídio sólido no NCL amorfo, pode ocorrer separação de fase, com formação de nanocompartimentos de óleo na matriz lipídica sólida (ÜNER, RADTKE, WISSING, 2007; JENNING, MÄDER, GOHLA, 2000).

O sistema carreador lipídico nanoestruturado passou a ser difundido na virada do milênio, ganhando força em diversas universidades do mundo com linhas de pesquisas (MÜLLER, 2007). Estes sistemas são aplicados no campo da tecnologia farmacêutica para a liberação modificada de fármacos, tratamento tópico de enfermidades e para a liberação transdérmica de fármacos (BELOQUI *et al.*, 2016; MENG *et al., 2016;* GUO *et al., 2015;* LUFTI, 2014;KHALIL *et al*., 2014; MANEA *et al*., 2014; LIU *et al*., 2014; VITORINO *et al*., 2014; WANG *et al*., 2014; GOMES *et al*., 2014).

Dentre essas aplicações podemos citar: NCL contendo melatonina para tratamento de câncer de mama; NCL com nocodazol para tratamento de câncer; NCL com meloxicam para liberação tópica; NCL contendo quercetina; NCL contendo ácido alfa lipóico (ação antioxidante). NCL contendo minoxidil e finasterida (tratamento de alopécia) fármacos (SABZICHI *et al.*, 2016; LUFTI, 2014; KHALIL *et al*., 2014; MANEA *et al*., 2014; LIU *et al*., 2014; VITORINO *et al*., 2014; WANG *et al*., 2014; GOMES *et al*., 2014).Niculae e colaboradores (2014)realizou estudo sobre a influência do óleo vegetal na síntese de nanopartículas com amplo espectro de proteção e o mesmo verificou que óleos vegetais com ação fototoprotetora são excelentes lipídios bioativos para a formação de nanopartículas. As propriedades químicas do óleo de amêndoas e da polpa da bocaiúva demonstram que estes podem ser excelentes bioativos para o desenvolvimento de novas plataformas tecnológicas para o campo da nanotecnologia. Como os óleos podem sofrer

oxidação após exposição ao ar e ao calor (oxidação e fotodegradação), a nanoestruturação empregando esse óleo permitirá sua proteção e maior estabilidade dos produtos desenvolvidos. Entre os sistemas propostos no presente trabalho, as caracterizações físico-químicas permitirão avaliar qual o melhor sistema a ser empregado para o desenvolvimento das novas estruturas de nanopartículas.

1.1.1 Técnicas de obtenção dos carreadores lipídicos nanoestruturados

Para o preparo de nanopartículas lipídicas sólidas existem cinco métodos principais: microemulsão à quente, emulsificação e evaporação do solvente, difusão de solvente, spray-drying e homogeneização de alta pressão. A partir destas outras técnicas surgiram: homogeneização à quente e à frio, emulsificação-difusão, emulsificação-ultrassonificação (MANJUNATH & VENKATESWARLU 2006; SURESH*et al.*, 2007).

Dentre essas técnicas, uma das mais utilizadas é a da homogeneização a alta pressão (quente ou à frio), em que a dispersão de partículas é submetida à pressão de 100 a 2000 bar.Ná técnica na qual a homogeneização ocorre à quente**(Figura 2)**, o princípio ativo é dissolvido no lipídio fundido e na sequência essa mistura é adicionada à solução aquecida de tensoativos sob alta agitação (ex. Turrax®), formando uma pré-emulsão. Essa pré-emulsão é que será submetida ao homogeneizador a alta pressão. Geralmente, se faz necessário passar a pré-emulsão por três a cinco ciclos no homogeneizador. Essa metodologia é mais utilizada para o encapsulamento de ingredientes ativos com caráter lipofílico, já que, aqueles com características hidrofílicas podem migrar para a fase aquosa, resultando em baixa eficiência de encapsulação (ATTAMA, REICHEL, MÜLLER-GOYMANN, 2008; CHEN*et al., 2006*; SURESH *et al.*, 2007).

Na técnica a frio**(Figura 2)**, o componente ativo é dissolvido no lipídio fundido com ou sem a presença de tensoativos e essa mistura é imersa em gelo seco ou nitrogênio líquido para ser solidificada. Após sua solidificação ocorre a moagem das partículas em moinho, obtendo microparticulas que serão dispersas em solução de tensoativos.Essa dispersão então, é submetida a homegeneização a alta pressão em temperatura ambiente ou à temperatura inferiores. Essa técnica é indicada para ativos hidrofílicos, bem como, ativos termosenssíveis (MARCATO& DURAN, 2008).

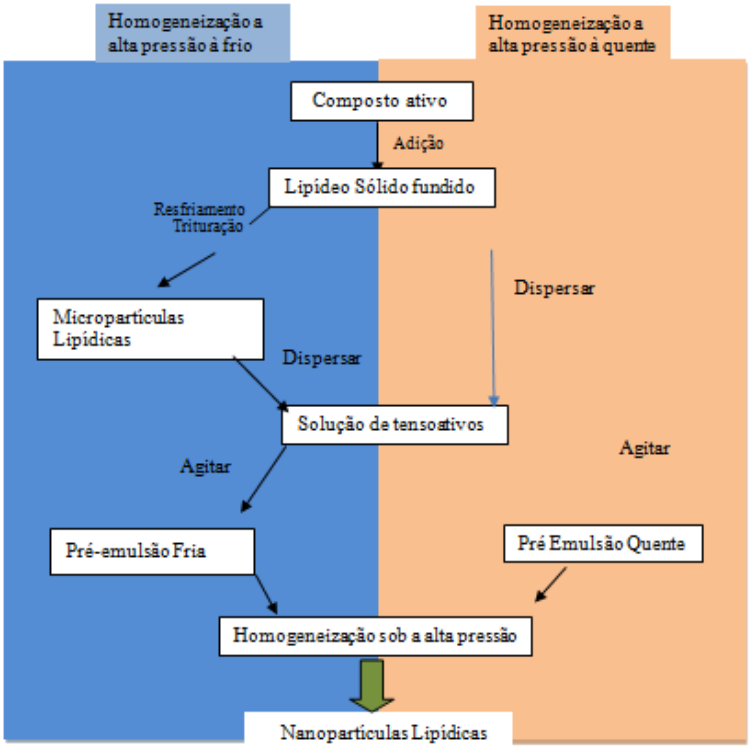


Figura 2. Representação esquemática da HAP a quente e a frio

1.2 Sistemas poliméricos nanoestruturados

As nanopartículas poliméricas, constituídas por matérias biodegradáveis, são sistemas carreadores de fármacos com diâmetro inferior a 1 µm, que se apresentam mais estáveis aos fluídos biológicos e durante o armazenamento (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

Existem dois tipos de nanopartículas poliméricas: as nanocápsulas, que possuem núcleo oleoso, onde o fármaco pode estar dissolvido e/ou adsorvido à parede polimérica; e a nanoesfera, nesta estrutura não encontramos óleo em sua composição e o fármaco está retido ou adsorvido na matriz polimérica.

Diferentes métodos de obtenção da nanopartícula polimérica são descritos na literatura, e esses são classificados de maneira geral de acordo com o método da polimerização, seja ela *in situ* de monômeros dispersos ou na precipitação de polímeros pré-formados. Após a formação da

nanopartícula polimérica, sua superfície pode ser modificada quimicamente, possibilitando a obtenção de plataforma multifuncional para diferentes aplicações (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; FARAJI & WIPF, 2009). Essa modificação da superfície pode direcionar as partículas para sítio de ação específico. Além dessa vantagem, a nanoestruturação permite o aumento da estabilidade dos princípios ativos, frente à fotodegradação e oxidação, além da própria fluidez que contribui para melhor espalhabilidade sobre a pele.

As principais desvantagens desse sistema nanoestruturado envolve a presença de solvente orgânico residual usado no processo de produção destas partículas, citotoxidade dos polímeros, dificuldade no escalonamento do processo de produção (MARCATO & DURAN, 2008), instabilidade em meio aquoso, pois pode ocorrer agregação e fusão das partículas após longo período de armazenamento (ABDELWAHED *et al.*, 2006), contaminação microbiológica e hidrólise polimérica não-enzimática (TEWA-TAGNE, BRIAÇON, FESSI, 2007).

1.2.1 Técnicas de obtenção sistemas nanoestruturados poliméricos

Existem várias técnicas para a preparação de nanopartículas poliméricas, que podem ser dividas em duas metodologias principais: polimerização*in situ* de monômeros dispersos, como por exemplo, o cianoacrilatos de alquila e a técnica da precipitação de polímeros pré-formados, utilizando como matéria-prima, por exemplo, o poli-ácido lático, ou a poli-epson-caprolactona (ALONSO, 2004; GUTERRES, SCHAFFAZICK, POHLMANN, 2007; DURAN, MATTOSO & MORAIS, 2006).

Na técnica de polimerização *in situ*são utilizados monômeros, que são submetidos ao processo de polimerização para dar origem ao polímero. Pode originar nanoesferas, quando a polimerização ocorre em emulsão, ou nanocápsulas, quando as mesmas ocorrem por meio de polimerização interfacial (GUTERRES, SCHAFFAZICK, POHLMANN, 2007; DURAN, MATTOSO & MORAIS, 2006).

Na metodologia utilizando os polímeros pré-formados, esses estão previamente formados e as técnicas de preparo mais conhecidas são: nanoprecipitação, deposição interfacial do polímero pré-formado, emulsificação-evaporação de solvente e o método de *salting-out.* Dentre essas, a mais utilizada é a nanoprecipitação, descrita em 1989 por Fessi e colaboradores.

De maneira geral, a nanoprecipitação baseia-se na mistura de fase orgânica (contendo um solvente orgânico, óleo, tensoativo lipofílico e polímero insolúveis no óleo e na água) miscível em fase aquosa (contendo tensoativo hidrofílico). A fase orgânica é injetada na fase aquosa,

promovendo a precipitação do polímero com a redução da solubilidade na mistura de solventes (GUTERRES, SCHAFFAZICK, POHLMANN, 2007; DURAN, MATTOSO & MORAIS, 2006). O solvente é removido sob pressão reduzida e a suspensão é concentrada por meio da evaporação do excesso de água no sistema (FESSI *et al.*, 1989).

1.3 Regulamentação

Em 1959, no encontro da Sociedade Americana de Física, Richard Feynman proferiu a palestra intitulada "Há muito espaço lá embaixo", referindo-se a nossa visão macroscópica, mas certamente "míope", que não imaginaria uma fita de DNA de quase 1 metro de comprimento, dentro de um núcleo de uma célula. Nessa palestra, Feynmann levantou a possibilidade de projetar e criar novos materiais a partir da manipulação de átomos e moléculas (CADIOLI & SALLA, 2006; MARANHÃO, 2008) e a importância da microscopia para esse avanço.

Conceitualmente os pesquisadores adotaram a seguinte definicação para a nanotecnologia: estudo de manipulação da matéria numa escala atômica e molecular que inclui o desenvolvimento de materiais ou componentes, que está associada a diversas áreas como a química, física, medicina, farmácia, engenharia de alimentos, engenharia de materiais, eletrônica dentre outras.

O princípio básico da nanotecnologia envolve a elaboração de estruturas e novosmateriais a partir dos átomos (os tijolos básicos da natureza). É uma área promissora, mas ainda incipiente, em seus primeiros passos. Porém, tem demonstradoresultados surpreendentes. Diversos países, como Japão, Estados Unidos, China e inclusive o Brasil, criaram linhas de pesquisas públicas prioritárias, visando novas descobertas científicas que utilizam como instrumento a nanotecnologia.

Em 30 de setembro de 2013, a agência *U.S Food and Drug Administration*lançou plano regulador de pesquisas na área de nanotecnologia para promover o desenvolvimento responsável de produtos regulamentados pela FDA ou nanomateriais. O programa estabelece as ferramentas, métodos e dados para auxiliar na tomada de decisão na regulamentação e áreas de interesse.Em 14 de junho de 2011 a FDA publicou um guia de orientação aos fabricantes, fornecedores, importadoras e partes interessadas no seguimento de nanomateriais e também no mês de junho de

2014, esse mesmo órgão lançou um guia para indústrias que utilizam nanomateriais em produtos cosméticos, no qual ressaltam a importância da segurança toxicológica desses, uma vez que a diminuição do tamanho da partícula, conduz a área de superfície maior, alterando significativamente a biodisponibilidade no sítio de ação (FDA, 2014). Todavia, não é um marco regulatório, e sim alguns parâmetros importantes para o setor, como por exemplo, o tamanho que a partícula deve apresentar.

Na área farmacêutica, a nanotecnologia vem cada vez mais ocupando as bancadas dos laboratórios, na busca de aperfeiçoar e desenvolver novos medicamentos, buscar soluções para aumentar a biodispobilidade de fármacos no organismo, dentre outros. Um campo que vem sendo explorado, também, com insumos presentes no mercado, são os lipossomas e os nanolipídios cosméticos.Além de atuarem no aumento da permeação cutânea, auxiliam na proteção dos insumos e melhoram espalhabilidade, dentre outras características.

2 OBJETIVOS

i) Preparar as nanopartículas poliméricas e os carreadores lipídicos nanoestruturados contendo os óleo da polpa e da amêndoa da bocaiuva

ii) Avaliar a estabilidade físico-química das nanopartículas poliméricas e dos carreadores lipídicos nanoestruturados

3 MATERIAL

3.1 Equipamentos

Agitador magnético com aquecimento, Quimis®, Q261;

Agitador ULTRA Turrax®, IKA T 50;

Balança analítica, Shimadzu®, precisão 1 mg – 220g, AUW;

Banho maria ultratermostático, Novatécnica®, 281NT

Centrífuga, VWR™ – Modelo Galaxy 16D

Estufa com graduação de temperatura entre 0 a 100ºC, Nova Ética®

Evaporador rotatório, Bucchi®

Homogeneizador de alta pressão, Alitec A10®

Peagômetro, Quimis®

Zetasizer Nano Zs – Malvern Instruments, Malvern®

3.2 Matérias-primas, solventes e reagentes

Acetona P.A. Synth®;

Água purificada Milli-Q®;

Lauril Sulftato de Sódio G.F., Merck®

Lecitina de Soja Pó, G.F., (*Lecithin)*, Mapric®;

Polímero de metiloxirano com oxirano G.F. (Lutrol micro 68 MP®), Basf;

Monoestearato de sorbitano G.F, J.T. Baker;

Monooletado de sorbitano G.F. (Monoestearato de sorbitano), J.T. Baker;

Óleo da polpa de bocaiuva, Cocal Brasil®;

Óleo da amêndoa da bocaiuva, G.F.,Cocal Brasil®;

Palmitato de Cetila, Mapric®;

Poli(ε-caprolactona), P.A.,Sigma Aldrich®;

Triglicérides de ácido cáprico-caprílico, G.F.,Mapric®

4. MÉTODOS

4.1 Preparações dos sistemas nanoestruturados poliméricos contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva

Para a obtenção dossistemas nanoestruturados poliméricoscontendo o óleo da polpa ou o óleo da amêndoa da bocaiuva foi utilizado o método de precipitação de polímero pré-formado que consiste na adição, sob agitação da fase orgânica contendo: o Poli(ε-caprolactona) (PCL);a acetona; o óleo proveniente da polpa ou da amêndoa e o monoestearato de sorbitan sobre fase aquosa contendo polissorbato 80 (**Tabela 1).**A eliminação do solvente e parte da água foiefetuada empregando evaporador rotatório e o volume da suspensão foi ajustado em balão volumétrico (BECK *et al*., 2004).

Tabela 7.Fórmula de referência para a elaboração das nanopartículas poliméricas (obtidas pelo método de precipitação contendo o óleo da polpa e da amêndoa para volumefinal de 10, 50 e 100 mL).

FASE ORGÂNICA			
	Volume (mL)		
Componente	**10,0**	**50,0**	**100,0**
Massa (g)		**p/v**	
Poli(ε-caprolactona)	0,1000	0,5000	1,0000
Monoestearato de sorbitan	0,0770	0,3850	0,7770
TACC	0,3333	1,6665	3,3330
Acetona (mL)	27,000	135,00	270,00
FASE AQUOSA			
Massa (g)		**p/v**	
Polissorbato 80	0,0770	0,3850	0,7770
Água purificada Milli-Q®	53,000	265,00	530,00

*Legenda:*TACC: triglicérides de ácido cáprico caprílico

A partir dessa formulação base apesentada na **Tabela 1** foram delineadas algumas formulações alternativas para o estudo exploratório. Os estudos preliminares (exploratórios) tiveram o objetivo de observar o tamanho médio da partícula e o potencial zeta em função da variação da concentração do óleo da polpa e do óleo da amêndoa, bem como, da adição do triglicérides de ácido cáprico caprílico. Os demais componentes da fórmula: poli(ε-caprolactona), acetona, polissorbato e água permaneceram com concentração fixa.

Na **Tabela 2** estão apresentadas as variações em massa (g) dos componentes triglicérides de ácido cáprico/caprílico (TACC) e o óleo da polpa ou óleo da amêndoa, para a obtenção de sistemas nanoestruturados poliméricos.

Tabela 2. Propostas para o desenvovimento sistemas nanoestruturados poliméricosobtidas pelo método de precipitação, contendo o óleo polpa e óleo da amêndoa da bocaiuva para massa final de 10g.

Componente	Fórmula base	NP1	NP2	NP3	NP4
		Fase oleosa			
Poli(ε-caprolactona)	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000	0,1000
Mono-oleato de Sorbitano	0,0770	0,0770	0,0770	0,0770	0,0770
T.A.A.C	0,3333	0,1665	0,0000	0,1665	0,0000
Óleo da óleo polpa	0,0000	0,0000	0,0000	0,1665	0,3333
Óleo da amêndoa	0,0000	0,1665	0,3333	0,0000	0,0000
Acetona	27,0000	27,0000	27,0000	27,0000	27,0000
		Fase aquosa			
Tween 80	0,0770	0,0770	0,0770	0,0770	0,0770
Água purificada Milli-Q®	53,0000	53,0000	53,0000	53,0000	53,0000

Legenda: TACC: triglicérides de ácido cáprico caprílico

4.2 Preparações dos carreadores lipídicos nanoestruturado contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva

A partir da formulação de referência apresentada na **Tabela 2,** foram propostas algumas formulações para o estudo exploratório utilizando o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva **(Tabela 3).** Essas formulações foram alteradas no que se refere às concentrações dos seguintes insumos: triglicerides de ácido cáprico caprílico, lecitina de soja pó, lecitina de soja

líquida, Span®, óleo de polpa da bocaiuva, óleo da amêndoa da bocaiuva, lauril sulfato de sódio e Tween®. Não foram alteradas as concentrações do palmitato de cetila, Lutrol micro 68MP® e água. A **Tabela 3** apresenta as variações das concentrações utilizadas para o desenvolvimento farmacotécnico das formulações dos carreadores lipídicos nanoestruturados.

Os componentes da fase oleosa foram pesados na proporção conforme a **Tabela 3**, para obter 200 g da preparação. Em um béquer de 250 ml foi pesada a fase oleosa constituída de: palmitato de cetila (ácido graxo saturado); o triglicérides dos ácidos cáprico/caprílico (ácido graxo insaturado); o óleo da polpa ou óleo da amêndoa da bocaiuva e a lecitina de soja. A fase oleosa foi aquecida com auxílio de uma placa de aquecimento até a temperatura de 85°C(HAN *et al*., 2008). Em outro béquer de 250 mL, foram transferidas a água, o Lutrol® e o Monoestearato de sorbitano (Fase Aquosa). A fase aquosa foi homogeneizada com auxílio do agitador magnético a 500 rpm, a 85,0°C por aproximadamente 5 minutos (até completa dispersão dos tensoativos). A fase aquosa foi dispersa na fase lipídica, sob agitação mecânica (8000 rpm) utilizando agitador Turrax®, de modo a formar uma pré-emulsão (TEERANACHAIDEEKUL *et al*., 2008). Esta pré-emulsão foi submetida à homogeneização a alta pressão, utilizando três ciclos sucessivos a 500 bar (HAN *et al*., 2008). A massa final de cada lote foi de 200 g.

Tabela 3. Formulação de Referência para Estudos Preliminares do Carreador Lipídico Nanoestruturado

Formulação de Referência para Estudos Preliminares Carreador Lipídico Nanoestruturado	
Componente	**% (p/p)**
Fase Oleosa (g)	
T.A.C.C	4,0
Palmitato de Cetila	6,0
Lecitina de Soja pó	1,0
Fase Aquosa (g)	
Laurilsulftato de sódio	1,0
Poloxamer 188®	2,5
Monoestearato de sorbitano	2,5
Água purificada Milli-Q® q.s.p	100g

Legenda: TACC: triglicérides de ácido cáprico caprílico

Tabela 4. Proposta para o desenvolvimento de sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva.

Formulação Base	**NCL1**	**NLC2**	**NCL3**	**NCL4**	**NCLA1**	**NCLA2**
Componentes			**% (p/p)**			
			Fase Oleosa			
TAAC	2	2	0	0	0	0
Palmitato de Cetila	6	6	6	6	6	6
Lecitina de soja líquida	0	0	0	0	2	2
Lecitina de soja pó	1	1	1	1	0	0
Monoestearato de sorbitano	0	0	0	0	4,5	4,5
Óleo da polpa da Bocaiuva	2	0	4	0	4	0
Óleo de amêndoas	0	2	0	4	0	4
			Fase Aquosa			
Laurilsulfato de sódio	1	1	1	1	1	1
Lutrol micro 68 MP®	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Monoleato de sorbitano	2,5	2,5	2,5	2,5	0,5	0,5
Água purificada Milli-Q®	83	83	83	83	79,5	79,5

Legenda: TACC: triglicérides de ácido cáprico caprílico

4.3 Caracterização físico-química dos sistemas nanoestruturados poliméricos e carreadores lipídicos contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva: estudo exploratório

4.3.1 Determinação do diâmetro hidrodinâmicomédio (DHM) e índice de polidispersividade (IP)

Os DHM das partículas obtidas a partir da matriz de ensaios foram determinados imediatamente após a homogeneização a alta pressão. Para a determinação foi utilizada a espectroscopia de correlação do fóton, (PCS) empregando o Zetasizer ZS90 (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido) a 25,0° C e ângulo de 90 ° (n = 10). O PCS produz o diâmetro médio (média z), a partir da intensidade de luz ponderada de tamanho da população e da preparação, e o índice de polidispersividade (PI) como medida para a largura da distribuição de tamanho de partícula (TEERANACHAIDEEKUL *et al.*, 2008).

4.3.2 Potencial zeta (PZ)

O Zetasizer ZS 90 (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido) também foi utilizado para medir o potencial zeta (ZP). As medições foram realizadas em água destilada, com a sua

condutividade ajustada para 50 mS/cm pela adição de NaCl, a fim de evitar flutuações do ZP causada pela diferença na condutividade (n=3). O pH será ajustado para 5,5 ± 0,2 por adição de HCl 0,01 N ou solução 0,01 N de NaOH. As medições foram realizadas empregando força de campo de 20V/cm. A conversão da mobilidade eletroforética do ZP foi realizada utilizando a equação de Smoluchowski Helmholtz(ZHANG *et al.*, 2010).

4.4 Estabilidade preliminar dos sistemas nanoestruturado polimérico e carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva.

A Avaliação preliminar da estabilidade (AEP) consiste na realização do teste na fase inicial do desenvolvimento de um produto. Para tanto, condições extremas de temperaturas são empregadas para verificar possíveis reações entre seus componentes ou de sinais que demonstrem alterações significativas no sistema, bem como o teste de centrifugação (BRASIL,2004).

4.4.1 Centrifuga

Para realizar este teste foram utilizados 0,5 g de cada sistema nanoestruturado obtido, colocados em eppendorf e submetidos à centrifugação (Centrífuga, VWR^{TM} – Modelo Galaxy 16D) em 3000 rpm, por trinta minutos e vinte segundos para desaceleração, em temperatura controlada (25 ± 2ºC) com

Após o ensaio os sistemas nanoestruturados foram analisados de acordo com o aspecto e classificadas da seguinte maneira:

i) Normal (N)

ii) Levemente modificada (LM)

iii) Modificada (M)

iv) Intensamente modificada (IM)

Neste teste o produto deve permanecer estável e se houver qualquer sinal de instabilidade é necessário à reavaliação do sistema (BRASIL, 2004; TADROS, 2004; PRESTES *et al.*, 2007; RIBEIRO, KHURY & GOTTARDI, 1996).

4.4.2 Estresse térmico

Cerca de 5g de cada um dos sistemas nanoestruturados obtidos foram acondicionadas em frascos plásticos transparentes de poliestireno submetidos ao aquecimento em banho maria ultratermostático (Novatécnica®, 281NT) no intervalo de temperatura controlado entre 40,0-60,0^0 C, com progressão de elevação de 5,0^0 C/30 minutos.

Após serem submetidos ao estresse térmico e finalizado o ensaio, os sistemas nanoestruturados foram analisados de acordo com o aspecto e classificadas da seguinte maneira:

v) Normal (N)

vi) Levemente modificada (LM)

vii) Modificada (M)

viii) Intensamente modificada (IM)

4.4.3 Estabilidade normal dos sistemas nanoestruturado polimérico e carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva

O Teste de estabilidade normal (TEN), também conhecido como estabilidade acelerada ou exploratória, tem como objetivo fornecer informações para avaliar a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondiocionamento. O teste em geral é conduzido por 90 dias, onde as amostras são submetidas a diferentes condições de temperatura e as variáveis analisadas são: aspecto, cor, odor, pH e viscosidade aparente.

Os sistemas nanoestruturado polimérico e carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva foram avaliados por 90 dias, sendo as leituras realizadas nos tempo igual a 24 horas(T0), 7 dias (T7), 21 dias (T21) e 60 dias (T60) e 90 dias (T90). As amostras foram armazenadas em temperatura ambiente (25,0 ± 2,0º C), em geladeira (5,0 ± 2,0ºC) e em estufa (37 ± 2,0ºC) e luz solar indireta (25,0 ± 2,0^0 C)(BRASIL, 2004; PRESTES *et al*., 2007) e as variáveis analisadas foram: aspecto, cor, odor (características organolépticas) e valor de pH.As formulações deverão permanecer estáveis no período do teste (BRASIL, 2004), caso contrário, os sistemas deveriam ser reavaliados ou descartados para a continuidade dos estudos.

Após cada leitura nos tempo (T0, T7, T21, T60 e T90) os sistemas nanoestruturados foram analisados de acordo com o aspecto e classificados da seguinte maneira:

i) Normal (N)

ii) Levemente modificada (LM)

iii) Modificada (M)

iv) Intensamente modificada (IM)

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico-química dos sistemas nanoestruturados poliméricos contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva

5.1.1. Diâmetro hidrodinâmico médio, índice de polidispersividade e potencial zeta

Os sistemas nanoestruturados poliméricos contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva foram caracterizadas determinando o diâmetro de partícula, o índice de polidispersividade e o potencial zeta, sendo apresentadas na **Tabela 5.**

Tabela 5. Média dos resultados: potencial zeta, diâmetro hidrodinâmico médio e polidispersividade para os sistemas naoestruturados poliméricos (NP) **NP1, NP2, NP3, E NP4.**

Análise Realizada	**Média ± DP**	**Média ± DP**	**Média ± DP**	**Média ± DP**
	NP1	**NP2**	**NP3**	**NP4**
Potencial Zeta (mV)	- 27,3 ± 0,7	-23,9 ± 0,9	-21,1 ± 2,3	- 22,4 ± 2,3
Diâmetro médio (nm)	271,6 ± 0,1	227,7 ± 15,4	243,9 ± 12,4	192,5 ± 8,2
Índice de Polidispersidade	0,27 ± 0,08	0,10 ± 0,07	0,26 ± 0,09	0,13 ± 0.05

Todas as suspensões das nanopartículas poliméricas apresentaram DHM menor que 272nm. A formulação **NP1** obtêve o menor potencial zeta (- 27.35 ± 0.7mV),o maior diâmetro médio de particula (271.65 ± 0.1 nm) e o maior índice de polidispersividade (0.274). As formulações **NP2, NP3 e NP4** apresentaram potencial zeta similar sendo -23.95; -21.1 e -22.4 mV, respectivamente. O menor diâmetro de partícula obtido foi o da formulação **NP4** (192,55nm). As formulações **NP1** e **NP3** foram as que tiveram a substituição parcial do triglicérides de ácido cáprico caprílico (**NP1 =** 0.1665g de TACC + 0.1665g do óleo da amêndoa e **NP3**= 0.1665g de TACC + 0.1665g do óleo da polpa). No entanto, as formulações **NP2** e **NP4**foram desenvolvidas com a substituição total do triglicérides de ácido cáprico caprílico, utilizando o óleo de amêndoa (**NP2**) e o óleo da polpa (**NP4**). As formulações **NP2** e **NP4** foram as nanopartículas que obtiveram o menor diâmetro médio (**NP2**= 227,75 e **NP4** 192,55nm), bem

como os menores índices de polidispersividade (0.274 e 0.120, respectivamente). No trabalho realizado por Schaffazicke colaboradores (2003), a formulação desenvolvida com Poli(ε-caprolactona)e o Miglyol 810® (óleo composto por triglicérides de ácido cáprico e caprílico), apresentou diâmetro médio de partícula de 271,9 ± 55,40 nm. Com esses resultados podemos inferir que a substituição total do triglicérides de ácido cáprico e caprílico pode ser realizada com a utilização dos óleos extraídos do fruto da bocaiuva.

5.1.2 Avaliação preliminar da estabilidade do sistema nanoestruturado polimérico contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva

Os sistemas após o teste de centrífugação e estresse térmicoforam classificados conforme o aspecto que apresentaram: (N) normal; (LM) levemente modificada; (M) modificada e (IM) intensamente modificada (**Tabela 6)**.

Tabela 6. Avaliação preliminar da estabilidade dos sistemas nanoestruturados poliméricos (NP) imediatamente após a preparação.

Formulações Aspecto	**Centrifugação**	**Estresse térmico**
NP1	N	LM
NP2	N	N
NP3	N	N
NP4	N	N

5.1.3 Teste de Estabilidade Normal

A **Tabela 7** apresenta os resultados do Teste de Estabilidade Normal dos sistema nanoestruturado polimérico contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva.

Tabela 7. Teste de Estabilidade Normal dos sistemas nanoestruturados poliméricos (NP) contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva

Variáveis/ Formulação	**Geladeira**(5,0 ± 2,0^0 C)						**Temp. Amb.**(25,0 ± 2,0^0 C)						**Estufa**(45,0 ± 2,0^0 C)						**L. S. Ind.**(25,0 ± 2,0^0 C)					
	Tempo (dias)																							
	1	7	15	30	60	90	1	7	15	30	60	90	1	7	15	30	60	90	1	7	15	30	60	90
Aspecto																								
NP1	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	N	N	N	N	N	N
NP2	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NP3	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NP4	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Odor																								
NP1	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NP2	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NP3	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NP4	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Cor																								
NP1	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE
NP2	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE
NP3	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE
NP4	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE	LE
pH																								
NP1	5,5	5,6	5,7	5,7	5,8	5,8	5,5	5,6	5,8	5,9	6,1	6,0	5,8	6,0	6,1	6,0	6,2	6,3	5,5	5,6	5,6	5,7	5,8	6,0
NP2	5,3	5,3	5,4	5,4	5,5	5,5	5,4	5,5	5,5	5,6	5,7	5,7	5,5	5,6	5,7	5,9	6,0	6,1	5,3	5,3	5,4	5,5	5,5	5,7
NP3	5,6	5,6	5,6	5,7	5,8	5,8	5,6	5,7	5,9	6,0	6,1	6,2	5,8	6,2	6,2	6,4	6,5	6,7	5,6	5,6	5,8	5,9	6,3	6,5
NP4	5,5	5,5	5,6	5,7	5,8	5,8	5,5	5,6	5,6	5,7	5,8	5,8	5,7	5,7	5,8	5,9	6,0	6,1	5,5	5,5	5,6	5,7	5,8	5,9

LE :Leitoso **C**: característico **H**:homogêneo N : normal Temp. Amb. : temperatura ambiente; L. S. Ind. : Luz solar indireta

Nas **Figuras 3, 4, 5 e 7** estão apresentados os gráficos das variações do potencial hidrogeniônio dos sistemas nanoestruturados poliméricos, quando submetidos à diferentes condições de armazenamento, por 90 dias, com leituras intermitentes.

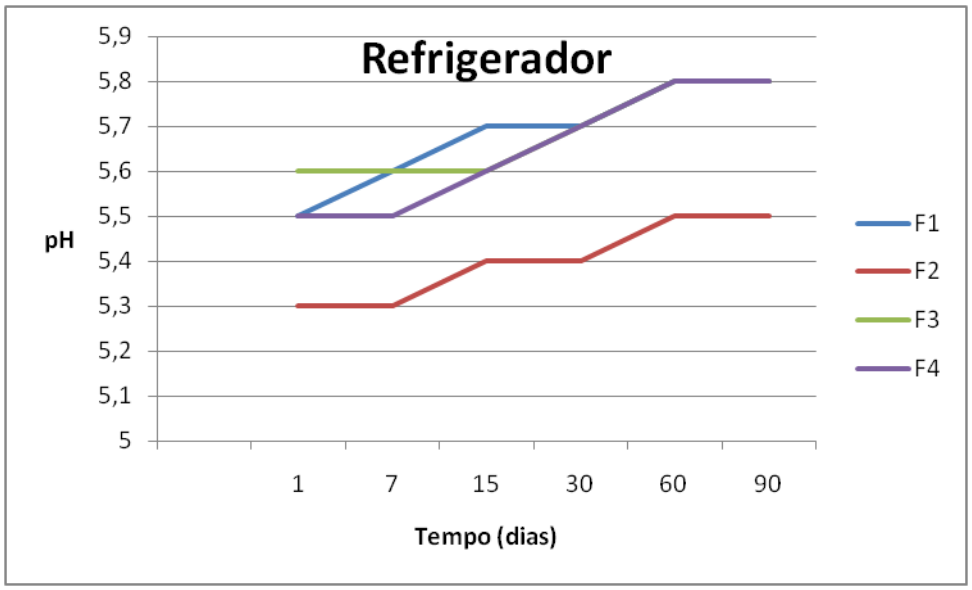


Figura 3. Variação do pH das formulações: **NP1, NP2, NP3 e NP4**quando submetidas à refrigeração . O NP1 teve uma variação de pH Δ% = de 5,45%; NP2 pH Δ% = 3,77%; NP3 pH Δ% = de 3,57% e NP4 pH Δ% = 5,45.

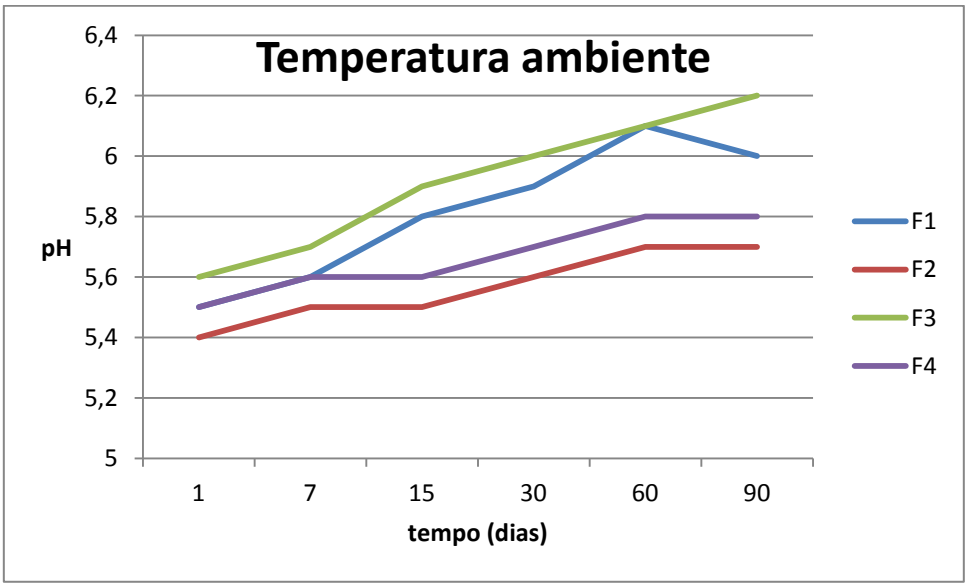


Figura 4. Variação do pH das formulações: **NP1, NP2, NP3 e NP4**quando submetidas à temperatura ambiente. A formulação NP1 teve uma variação de pH Δ% = 9,09; NP2 pH Δ% =7,45; NP3 pH Δ% = 10,71 e NP4 pH Δ% = 5,45

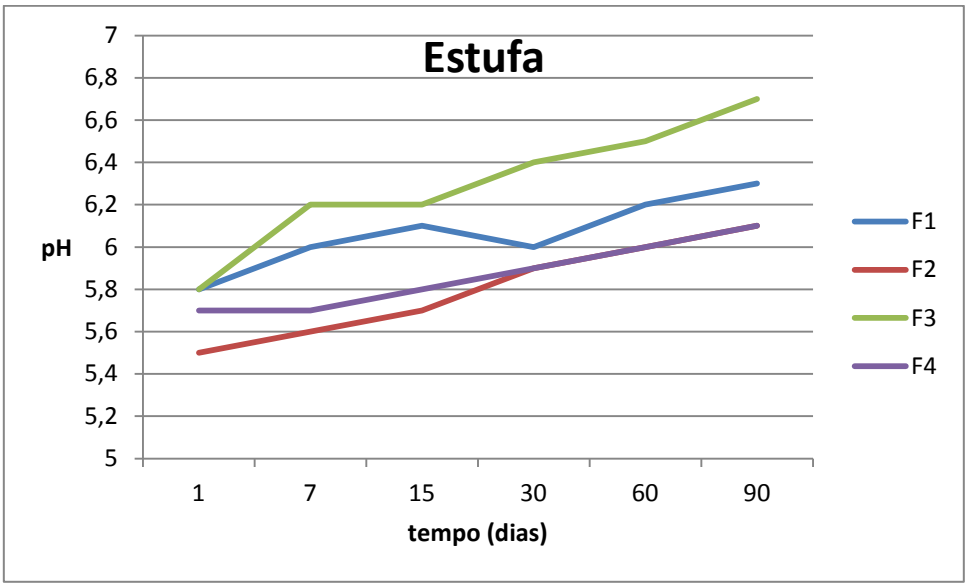


Figura 5. Variação do pH das formulações: **NP1, NP2, NP3 e NP4**quando submetidas à estufa.NP1 pH Δ% =14,5; NP2 pH Δ% = 15,09; NP3 pH Δ% = 19,60 e NP4 pH Δ% =10,90

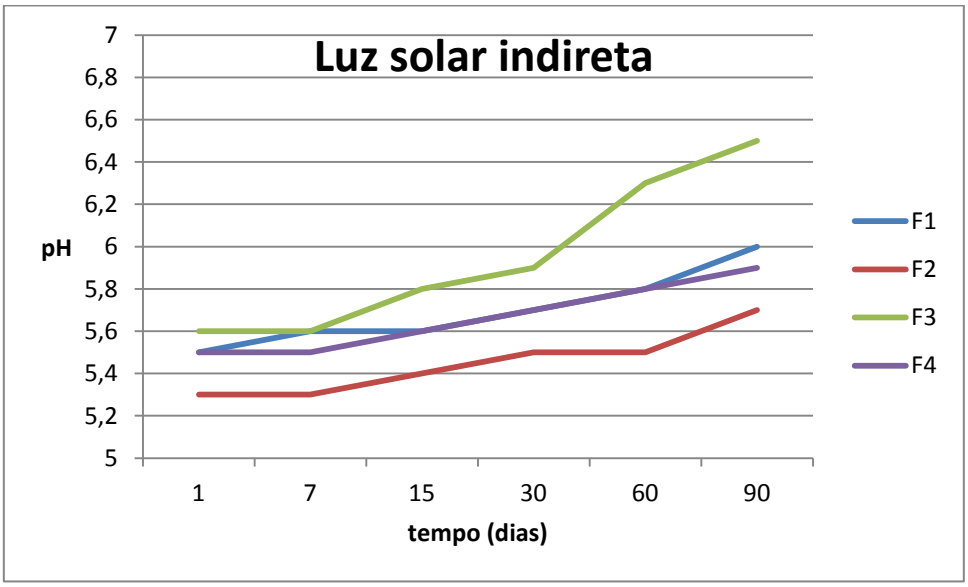


Figura 6. Variação do pH das formulações: **NP1, NP2, NP3 e NP4**quando submetidas à luz solar indireta. NP1 pH Δ% = 9,09; NP2 pH Δ% = 7,54; NP3 pH Δ% = 16,07 e NP4 pH Δ% = 7,27

Como podemos visualizar nas **Figuras 3, 4, 5 e 6**, houve aumento de pH em todas as formulações das nanopartículas poliméricas. As maiores variações foram constatadas na condição de armazenamento na estufa, este resultado já era consoante com o resultado esperado, pois a elevação da temperatura reflete diretamente na estabilidade física, físico-química e química de

insumos cosméticos e formas farmacêuticas. Sob temperatura ambiente, luz solar indireta e refrigerador as variações do pH (Δ%) foram menores, mas todas as leituras realizadas e apresentadas na **Tabela 7**mantiveram-se na faixa de pH fisiológico compatível com a pele (6,0 a 7,2) (BABY *et al., 2008;* CASTELI *et al.,* 2008). Entretanto, estas variações não foram perceptíveis visualmente pelo analista e os outros aspectos fisico-químicos avaliados permaneceram inalterados .No trabalho realizado por BIANCHIN *et al.,* 2015 dispersões lipofílicas de poli (epsilon-caprolactona) e poli-sorbato 80 foram combinadas com 4 diferentes materiais sólidos: monoestearato de sorbitano , palmitato de cetila, ácido esteárico ou colesterol, e 4 óleos : triglicéridos cáprico / caprílico , óleo mineral, metoxicinamato de octilo ou ácido oleico. Os valores de pH das formulações variaram entre 4,87 e 6,76, com uma tendência para valores mais baixos quando o ácido oleico foi utilizado como material lipófilo líquido. O estudo sugeriu que os resultados baixos aos valores do pH se devem à interação do grupos amónio formados por protonação dos átomos de nitrogênio da molécula do fármaco em estudo com o grupo carboxilato formado por doação de prótons a partir do ácido oleico (BIANCHIN et al., 2015).

5.2 Caracterização físico-química dos carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva

5.2.1 Diâmetro hidrodinâmico médio, índice de polidispersividade e potencial zeta

Os carreadores lipídicos nanoestrutuados contendo o óleo da polpa e o óleo da amêndoa da bocaiuva foram caracterizados determinando-se o diâmetro de partícula, o índice de polidispersividade e o potencial zeta, sendo apresentadas na **Tabela 8.**

Tabela 8. Média de três leituras do potencial zeta, diâmetro e polidispersividade para os sitemas carreadores lipídicos nanoestruturados (NCL).

Caracterização carreadores lipídicos nanoestruturados						
Formulação	**NCL1**	**NCL2**	**NCL3**	**NCL4**	**NCLA1**	**NCLA2**
Análise						
Potencial Zeta (mV)	-45,5 ± 3.1	-49,4 ± 6.7	- 47,0 ± 7.1	-44,7 ± 0.6	- 34,7 ± 1.5	- 34,4 ± 13,5
Diâmetro (nm)	145,8 ± 6,5	144,5 ± 14.5	127,7 ± 3.8	131,3 ± 5.8	111.3 ± 2.7	127.7 ± 13.3
Polidispersividade	0,16 ± 0.05	0,16 ± 0.02	0,18 ± 0.02	0,16 ± 0.02	0,29± 0.01	0,26 ±0.03

Legenda: NCL1 (TCCA:OPB); NCL2 (TCCA:OAP); NCL3 (OPB); NCL4 (OAB); NCLA1 (OPB + MoS); NCLA2 (OAB+ MoS) - OPB: óleo da polpa da bocaiuva; OAB: óleo da amêndoa da bocaiuva; MoS: Monoestearato de Sorbitano

Na formulação de referência **NCLA1** foi acrescido o óleo da polpa da bocaiuva, para isso reduziu pela metade a proporção do TACC (4%), para acrescentar em partes iguais o óleo da polpa e TAAC (2:2%), e não foi adicionado o óleo da amêndoa.

Na formulação **NCLA2**adicionou-se o óleo de amêndoa e TAAC na proporção de 2:2%, e não foi adicionado o óleo da polpa da bocaiuva.Nasformulações **NCL 003/004, NCLA1 e NCLA2,** não foadicionado o triglicérides de ácido cáprico caprílico e aumentou-se a quantidade de óleo de polpa e amêndoa na formulação. Porém, não foi preparada formulação contendo mistura dos óleos da polpa e da amêndoa. Nas formulações adaptadas foram adicionados o Span® 60, reduziu-se a concentração de Tween® 80 e a lecitina de soja em pó foi substituída pela lecitina de soja líquida.

As formulações **NCLA1** e **NCLA2** apresentaram valores de potencial zeta igual a -34.75 e – 34.45 mV, respectivamente. Portanto, esses valores foram inferiores, em módulo, aos obtidos para as formulações **NCL1**, **NCL2**, **NCL3** e **NCL4**(entre -44.73 e -49.42mV). As formulações **NCLA1** e **NCLA2**foram preparadas utilizando Mono-oleato de sorbitano, lecitina de soja líquida e menor quantidade de Monoestearato de sorbitano quando comparada às formulações **NCL1 a NCL4**. Considerando que as formulações **NCL1 a NCL4** apresentaram proporção de fase aquosa: fase oleosa de 9:1, os tensoativos com características hidrofílicas, mais polares, resultariam em formulações mais estáveis. O Mono-oleato de sorbitano possui EHL=4,7, sendo assim, esse tensoativo seria o mais indicado para formulações com características A/O. Dessa forma, o índice de polidispersividade elevado das formulações **NCLA1** e **NCLA2**pode ser decorrente dos tensoativos utilizados. O menor diâmetro médio obtido foi para a FA 001 e o índice de polidispersividade foi mais elevado nas formulação **NCLA1** e **NCLA2**. Nos resultados relativos ao índice de polidispersividade, valor igual ou menor a 0,200 pode indicar uniformidade adequada no tamanho das partículas (KOVACEVIC *et al.*, 2011).

Conceitualmente, as emulsões são consideradas fisicamente instáveis quando:

i) A fase interna ou dispersa tende a formar agregados de gotículas;

ii) Grandes gotículas ou agregados de goticulas surgem na superfície ou depositam-se no fundo, formando uma camada concentrada na fase interna;

iii) Todo o líquido ou parte do líquido da fase interna separa-se e forma uma camada distinta na superfície ou no fundo do frasco (ALLEN*et al*., 2007). Nas nanopartículas, esses fenômenos de instabilidade também são observados.

De acordo com a equação de Stokes (Lei de Stokes = O movimento de um corpo em um meio viscoso é influenciado pela ação de uma força viscosa, **Fv**, proporcional à velocidade, **v**, e definida pela relação **Fv = bv**) a velocidade de separação da fase dispersa de uma emulsão pode estar relacionada a fatores como tamanho de partículada fase dispersa, diferença de densidade entre as fases e viscosidade da fase externa(ALLEN, POPOVICH, ANSEL,2007).

Dessa forma, para aumentar a estabilidade de uma emulsão, o tamanho do glóbulo ou partícula deve ser reduzido ao menor tamanho possível. Na técnica de homogeneização a quente uma dispersão de partículas (pré-emulsão) é impulsionada a alta pressão, de 100 à 2000 bar, através de uma cavidade estreita em alta velocidade (100km/h) ao encontro de uma barreira. Esse

choque com a barreira, possibilita a formação das nanopartículas, que é uma partícula de tamanho muito reduzido, em que aumenta-se a estabilidade do sistema (MARCATO & DURAN, 2008). Outro ponto importante envolve a diferença de densidade entre as fases interna e externa, deve ser mínima e a viscosidade da fase externa deve ser razoavelmente alta (ALLEN, POPOVICH, ANSEL,2007).

Com o objetivo de aumentar a estabilidade da formulação, adionou-se o Lutrol Micro 68 MP®, cuja função é aumentar a viscosidade externa da formulação do carreador lipídico nanoestruturado. Esta substância (polaxamer) consiste de mistura polidispersa, de complexo de macromoléculas não iónicos, de massa molar entre 760 – 9510 g/mol e apresenta EHL acima de 20 e pode ser utilizado para aumentar a solubilidade em água de substâncias oleosas, hidrofóbicos. Além disso, esse componentepode aumentar asolubilidadede duas substâncias com diferentes hidrofobicidades. Por essa razão, esses polímeros são normalmente utilizados em aplicações industriais, cosméticos e produtos farmacêuticos.Adicionalmente, estudos divulgados na literatura, demonstraram que o Lutrol Micro 68 MP®diminui a coalescência de emulsões, ou seja, auxilia para que não ocorra a agregação das partículas.

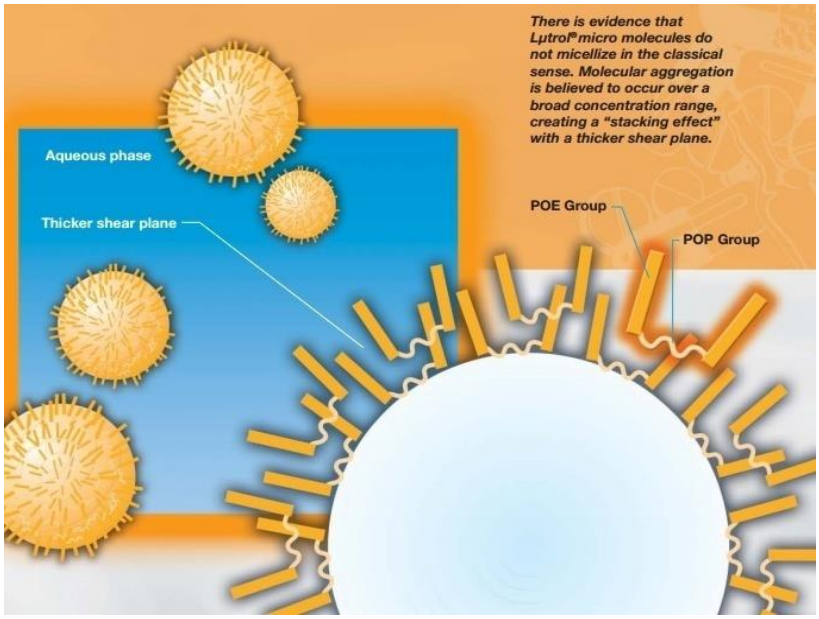


Figura 7. Ilustração da ação dos blocos dos polímeros na estrutura da micela.
Fonte: BASF_Lutrolmicro.

Outro componente da fórmula de fundamental importância é o lauril sulfato de sódio. Esse tensoativo aniônico sulfonato, cuja parte lipofílica tem carga negativa confere carga negativa aos carreadores lipídicos nanoestruturados(PEIXOTO, 2013).A carga negativa na superfície dos carreadores interfere diretamente na estabilidade da formulação e uma vez que existe disponibilidade de carga, ocorre o movimento de repulsão entre as partículas, evitando a formação de aglomerados.

A lecitina de soja, outro componente utilizado na formulação, também é um agente emulsionante. A lecitina de soja é um sub-produto do processo de fabricação do óleo da soja, constituída de um grande número de ácidos graxos, lipídio, proteínas, pigmentos e fosfolipídio de diferentes estruturas moleculares, com a fosfatidilcolina representando de 10 a 20% (MERTINS, 2004). Essa matéria-prima é muito utilizada na indústria alimentícia e farmacêutica, pois é considerada agente tensoativo não tóxico, que auxilia na formação da emulsão.

O lipídio sólido palmitato de cetilaé um éster de álcool e ácidograxo, de cadeia longa, saturada e ceroso. Essascaracterísticas conferem elevado grau de compatibilidadecom a pele, toque seco e não-oleoso. É bastante estável ao processo de oxidação, uma vez que apresenta baixo índice de iodo (MICHALUN & MICHALUN, 2010). O palmitato de cetila é muito utilizado no desenvolvimento de emulsões, pois aumenta a viscosidade da fase externa da emulsão, aumentando a estabilidade das mesmas. No desenvolvimento dos carreadores lipídicos nanoestruturados, o palmitato do cetila é o lipídio sólido (ácido graxo saturado) utilizado para a formação da matriz molecular imperfeita (FANG *et al.*, 2008; PARDEIKE, HOMMOSS & MÜLLER, 2009).

A utilização de lípidos sólidos e líquidos, como matrizes para a preparação de sistemas nanométricos de liberação de fármacos assegura muitas vantagens em relação a outros materiais, em especial:biocompatibilidade, baixa citotoxicidade, controle modificado na liberação do fármaco e produção em escala industrial (PEDERSEN *et al.*, 2006; CAVALI *et al.*,1997; MÜLLER, PETERSON, PARDEIKE, 2007).

O óleo da polpa e da amêndoa da bocaiuva apresentarambons resultados na formação de carreadores lipídicos nanoestruturados, demonstrando que podem ser alernativa de origem vegetal para formação de tais estruturas.Além da rica composição de ácidos graxos, a presença de terpenos e carotenóides, demonstra que o óleo dabocaiuva pode ter finalidade cosmética e terapêutica. A loção Dersani®, muito utilizada em hospitais para tratamento de escaras, consiste

de loção oleosa à base de A.G.E. (ácidos graxos essenciais) com vitaminas A e E, que revitaliza e mantém o equilíbrio hídrico da pele, melhorando sua elasticidade. O principal ácido graxo é o ácido linoleico, que auxilia na prevenção da formação de escaras e contribui para o restabelecimento da integridade da pele (BRUZI & MENDES, 2011), sua composição muito assemelha-se ao óleo da amêndoa da bocaiuva. Novos estudos podem ser conduzidos em formulações acrescidas do óleo da amêndoa da bocaiuva para avaliar a eficácia dermoterapêutica.

5.2.2 Avaliação preliminar da estabilidade dos carreadores lipídicos nanoestruturados

Os resultados da avaliação preliminar da estabilidade estão apresentados na **Tabela 9.**

Tabela 9. Avaliação preliminar da estabilidade das formulações carreadores lipídicos nanoestruturados (NCL)

Formulações	Centrifugação	Estresse térmico
	Aspecto	
NCL1	**N**	**N**
NCL2	**N**	**N**
NCL3	**N**	**N**
NCL4	**N**	**N**
NCLA1	**N**	**LM**
NCLA2	**N**	**LM**

Legenda: **N: normal LM: ligeiramente modificado** NCL1 (TCCA:OPB); NCL2 (TCCA:OAP); NCL3 (OPB); NCL4 (OAB); NCLA1 (OPB + MoS); NCLA2 (OAB+ MoS) - OPB: óleo da polpa da bocaiuva; OAB: óleo da amêndoa da bocaiuva; MoS: Monoestearato de Sorbitano

As formulações **NCLA1** e**NCLA2** apresentaram instabilidade após o teste de estresse térmico. Essas duas formulações foram desenvolvidas a partir dos resultado obtidos para o cálculo do EHL crítico para o óleo da polpa e óleo da amêndoa da bocaiuva. No cálculo do EHL crítico realizado no capítulo I, a melhor emulsão foi obtida na proporção de 9:1 Mono-oleato de sorbitano e Monoestearato de sorbitano . Esse resultado nos fornece dado importante, de que o processo de emulsionamento convencional não reproduz nos sistemas nanoestruturados lipídicos.

5.2.3 Teste de Estabilidade Normal

A **Tabela 10** apresenta os resultados do Teste de Estabilidade Normal das formulações carreadores lipídicos nanoestruturados.

Tabela 10. Estabilidade Normal dos sistemas carreadoros lipídicos nanoestruturados (NCL).

	Condições de Armazenamento																							
T.E.N.	**Refrigerador** (5,0 ± 2,0^0 C)						**Tem Amb** (25,0 ± 2,0^0 C)						**Estufa** (45,0 ± 2,0^0 C)						**Luz Solar Indireta** (25,0 ± 2,0^0 C)					
Variáveis	1	7	15	30	60	90	1	7	15	30	60	90	1	7	15	30	60	90	1	7	15	30	60	90
Aspecto																								
NCL1	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCL2	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCL3	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCL4	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCLA1	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	LM	LM	LM
NCLA2	H	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	LM	LM	LM
Odor																								
NCL1	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCL2	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCL3	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCL4	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCLA1	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCLA2	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Cor																								
NCL1	L.A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCL2	L.A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCL3	L.A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCL4	L.A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
NCLA1	L.A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	LM	M
NCLA2	L.A.	N	N	N	N	N	N	N	N	N	LM	LM	N	LM	LM	LM	M	M	N	N	N	N	LM	M
pH									± 0,05						± 0,05						± 0,05			
NCL1	5,2	5,3	5,5	5,5	5,7	5,6	5,2	5,3	5,3	5,4	5,6	5,6	5,3	5,6	5,9	6,4	6,5	6,6	5,2	5,2	5,3	5,4	5,6	5,6
NCL2	5,2	5,1	5,2	5,3	5,5	5,7	5,2	5,2	5,4	5,5	5,6	5,7	5,2	5,5	5,8	6,3	6,4	6,5	5,2	5,3	5,5	5,6	5,8	5,7
NCL3	5,4	5,5	5,6	5,8	5,8	5,8	5,4	5,5	5,5	5,5	5,5	5,6	5,6	5,7	6,2	6,4	6,5	6,5	5,4	5,5	5,5	5,6	5,7	5,8
NCL4	5,4	5,5	5,5	5,7	5,8	5,9	5,4	5,4	5,5	5,6	5,6	5,8	5,5	5,5	5,9	6,1	6,3	6,4	5,4	5,5	5,7	5,8	5,9	6,0
NCLA1	5,7	5,7	5,6	5,8	6,3	6,6	5,7	5,8	6,0	6,1	6,3	6,5	5,7	5,7	5,9	6,0	6,2	6,3	5,7	5,8	5,8	5,8	5,8	6,2
NCLA2	5,8	6,0	6,2	6,0	6,5	6,5	5,8	5,8	6,3	6,5	6,5	6,7	5,8	5,9	6,0	6,2	6,4	6,6	5,8	5,9	5,9	6,0	6,0	6,3

Legdenda: L.A = Levemente azulada (após leve agitação no frasco) C= característico H= homegêneo Legenda: NCL1 (TCCA:OPB); NCL2 (TCCA:OAP); NCL3 (OPB); NCL4 (OAB); NCLA1 (OPB + MoS); NCLA2 (OAB+ MoS) - OPB: óleo da polpa da bocaiuva; OAB: óleo da amêndoa da bocaiuva;
MoS: Monoestearato de Sorbitano

As **Figuras 8, 9, 10 e 11** apresentam graficamente as variações do potenciais hidrogeniônicos (pH) dos carreadores lipídicos nanoestruturados quando submetidos às condições de armazenamento (refrigerador, temperatura ambiente, estufa e luz solar indireta) em um determinado intervalo de tempo (1 a 90 dias, com leituras intermediárias).

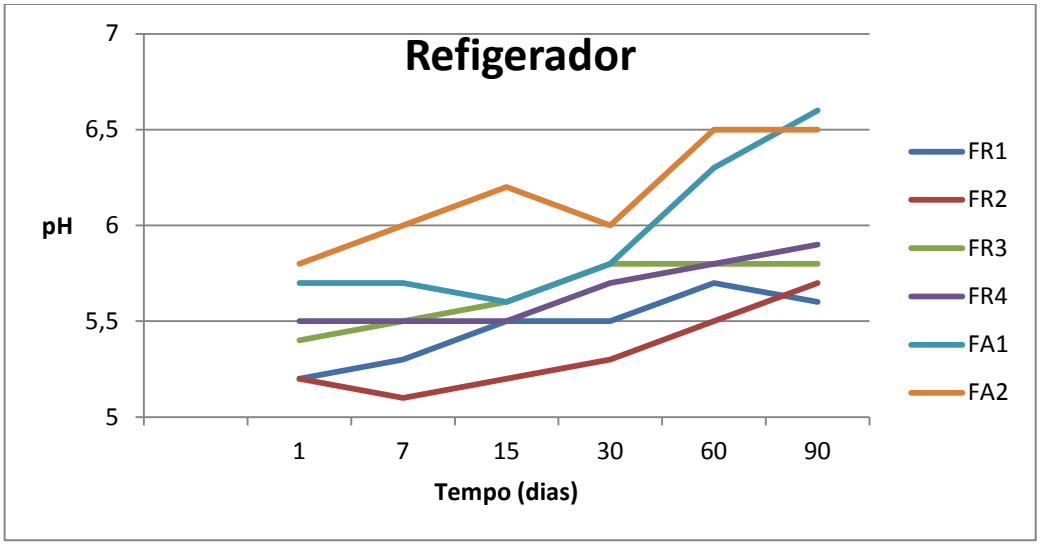


Figura 8. Variação do pH das formulações: **NCL1, NCL2, NCL3, NCL4, NCLA1 e NCLA2** quandosubmetidas à refrigeração. A formulação NCL1 teve variação de pH Δ% =ph = 7,6; NCL2 pH Δ% =9,6 NCL3 pH Δ% = 7,4; NCL4 pH Δ% = 9,2; NCLA1 pH Δ% =15,7 e NCLA2 pH Δ% = 12,06

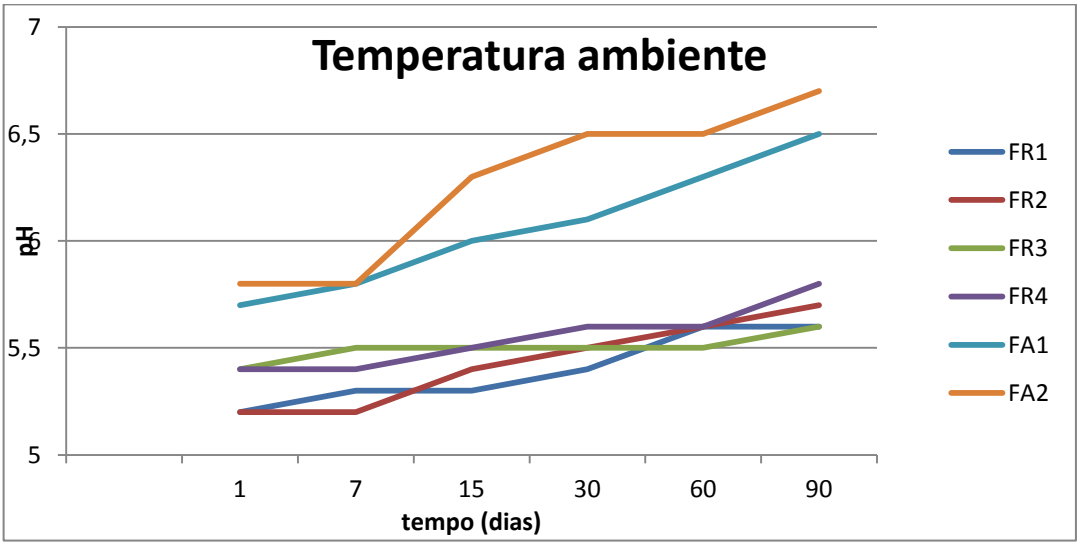


Figura 9. Variação do pH das formulações: **NCL1, NCL2, NCL3, NCL4,NCLA1 e NCLA2** quando submetidas à temperatura ambiente. A formulação NCL1 teve variação de pH Δ% = 7,6;
NCL2 pH Δ% = 9,6; NCL3 pH Δ% =3,7; NCL4 pH Δ% =7,4; NCLA1 pH Δ% = 14,0 e NCLA2 pH Δ% = 15,5

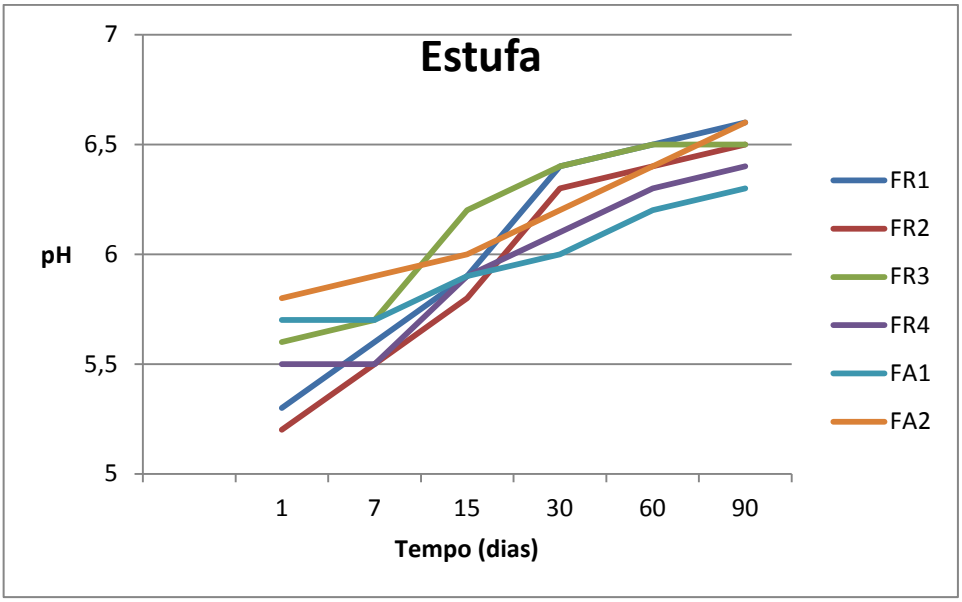


Figura 10. Variação do pH das formulações: **NCL1, NCL2, NCL3, NCL4, NCLA1 e NCLA2** quando submetidas à Estufa.A formulação NCL1 teve variação de pH Δ% = 26,9; NCL2 pH Δ% = 25,0; NCL3 pH Δ% = 20,3; NCL4 pH Δ% = 18,5 ; NCLA1 pH Δ% = 10,5 e NCLA2 pH Δ% = 13,7.

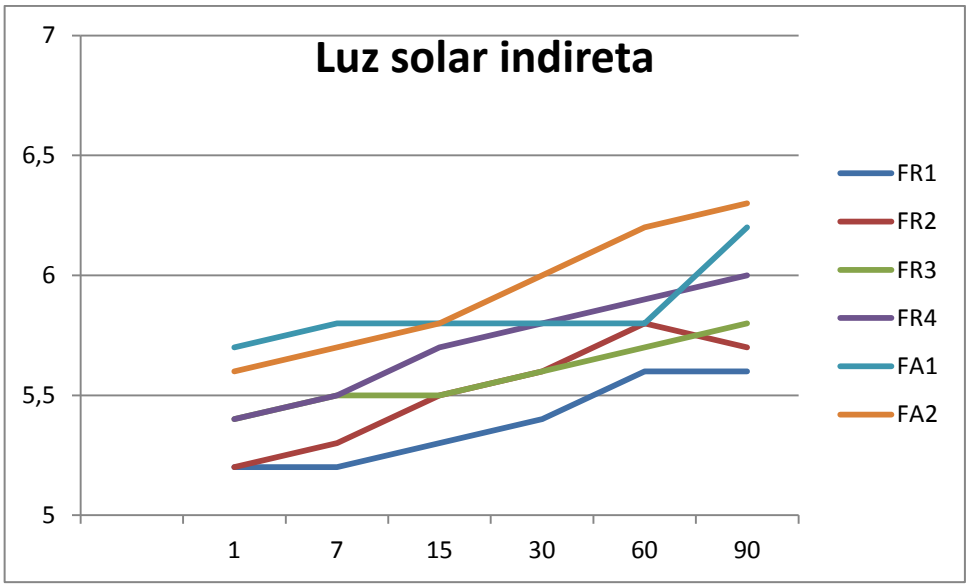


Figura 11. Variação do pH das formulações: **NCL1, NCL2, NCL3, NCL4, NCLA1 e NCLA2** quando submetidas à luz solar direta. A formulação NCL1 teve variação de pH Δ% = 7,6; NCL2 pH Δ% = 9,6; NCL3 pH Δ% =7,4; NCL4 pH Δ% = 11,1; NCLA1 pH Δ% = 8,7 e NCLA2 pH Δ% = 8,6

As maiores variações foram constatadas na condição de armazenamento na estufa e esse resultado era previsto. A elevação da temperatura reflete diretamente na estabilidade física, físico-química e química de insumos cosméticos e formas farmacêuticas. Sob à temperatura ambiente, luz solar indireta e refrigerador as variações do pH (Δ%) foram

menores, mas todas as leituras realizadas e apresentadas na **Tabela 10** mantiveram-se na faixa de pH fisiológico compatível com a pele (6,0 a 7,2) (BABY *et al., 2008;* CASTELI *et al.,* 2008). Entretanto, essas variações não foram perceptíveis visualmente pelo analista e os outros aspectos fisico-químicos avaliados permaneceram inalterados.

Considerando os resultados obtidos é possível observar que ambos os sistemas apresentaram estabilidade semelhante.Porém, o sistema lipídico além de apresentar DHM menor, entre 111 e 145 nm, sua preparação não inclui a adição de solventes orgânicos. Além disso, o método de homogeneização a alta pressão permite a obtenção desses sistemas em escala industrial. Dessa maneira, os sistemas poliméricos foram excluídos para a próxima etapa. Essa etapa refere-se às avaliações de citotoxicidade e de fotoproteção.

6 CONCLUSÕES

O óleo da polpa e o óleo da amêndoa do fruto da bocaiuva permitiram o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados inovadoreslipídicos e poliméricos, com potencial atividade antioxidante e de fotoproteção.

Os sistemas nanoestruturados poliméricos (NP1, NP2, NP3 e NP4) revelaram diâmetro hidrodinâmico médio (DHM) entre 192,55 ± 8,25 e 271,65 ± 0,1,Índice de polidispersividade (IP) entre 0,109 ± 0,077 e 0,274 ± 0,08 eo Potencial zeta (P_z) entre -21,1 ± 2,30 e -27,35 ± 0,7.

Os sistemas nanoestruturados lipídicos (NCL1, NCL2, NCL3, NCL4, NCLA1 e NCLA2) revelaram DHM entre 111,35 ± 2,70 e 145,8 ± 6,54 , IP entre 0,16 e 0,29 ± 0,01 e Potencial zeta (P_z) entre -34,45 ± 13,5 e -49,42 ± 6,75.

O pH dos sistemas nanoestruturados lipídicos NCL1, NCL2, NCL3, NCL4, não apresentaram alterações significativas quando armazenadas sob refrigeração, à temperatura ambiente e sob luz indireta, por período de 90 dias.

O pH dos sistemas nanoestruturados poliméricos NP1, NP2, NP3 e NP4 não apresentaram alterações significativas quando armazenadas sob refrigeração, à temperatura ambiente e sob luz indireta, por período de 90 dias.

Considerando os resultados obtidos, conclui-se que os sistemas com maior potencial de aplicação em preparações dermocosméticas são: NCL3 e NCL4, contendo apenas os óleos de bocaiuva, sem a adição dos triglicérides dos ácidos cáprico e caprílico.

7 REFERÊNCIAS

ABDELWAHED, W.; DEGOBERT, G.; STAINMESSE, S.; FESSI, H. Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 58, n.15, p. 1688-1713, 2006.

ALLEN JR., L.V.; POPOVICH, N.G., ANSEL, H.C. **Formas Farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos.** 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. p.301-340.

ALLIANZ, A.G. **Small sizes that matter: Opportunities and risks of Nanotechnology. Report in co-operation with the OECD International Futures Programme**. Allianz Center for Technology, 2055. Disponível em http://www.oecd.orh/ dataoecd/4/38/35081968.pdf. Acesso em 23/05/2006.

ALONSO, M.J. Nanomedicines for overcoming biological barriers. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v.58, p.168-172, 2004.

ATTAMA, A.; REICHEL, S.; MÜLLER-GOYMANN, C.C. Diclofenac sodium delivery to the eye: in vitro evaluatin of novel solid lipid nanoparticle formulation using human cornea construct. **International Journal of Pharmaceutics**, v.355, p. 307-313, 2008.

BABY, A.R.; HAROUTIOUNIA-FILHO, C.A.; SARRUFI, F.D.; TAVANTE-JUNIOR, C.R.; PINTO, C.A.S.O.; ZAGUE, V.; ARÊAS, E.P.G.; KANEKO, T.M.; VELASCO, M.V.R. Estabilidade e estudo de penetração cutânea *in vitro* da rutina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. **RevistaBrasileira de CiênciasFarmacêuticas,** v. 44, n. 2, p. 233-248, 2008.

BASF. Content uniformity – The new measure for bioavailability. Disponível em: *http://www.innovate-excipients.basf.com/Documents/ENP/Brochure/EN/BASF_Lutrolmicro.pdf.* Acesso em 04 de julho de 2014.

BECK, R.C., POHLMANN, A.R., GUTERRES, S.S. Nanoparticle-coated microparticles: preparation and characterization. **Journalof Microencapsulation**, v. 21, n. 5, p. 499-512, 2004.

BELOQUI, A.; SOLINÍS, M.Á.; RODRÍGUEZ-GASCÓN, A.; ALMEIDA, A.J.Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics (Review). **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v.12, p. 143-161, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Brasília, DF: ANVISA; 2004. 52p.

BRUZI, L.M.; MENDES, D.C. Importância da assistência de enfermagem no manejo de complicação relacionada ao cateter totalmente implantável**. Revista da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo,** v. 45, n. 2, p. 522-6, 2011.

CADIOLI, L.P.; SALLA, L.D. Nanotecnologia: um estudo sobre seu histórico, definição e principais aplicações desta inovadora tecnologia. **Ciências Exatas e Tecnologia.** v.1, n.1, p.98-105, 2006.

CARVALHO, F.A.; OLIVEIRA, E.; RIBEIRO, H.M.; ALMEIDA, A.J.A Quality by design (QbD) approach on starch-based nanocapsules: A promising platform for topical drug delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.142, p.177-185, 2016.

CASTELI, V.C.; MENDONÇA, C.C.; CAMPOS, M.A.L.; FERRARI, M.; MACHADO, S.R.P. Desenvolvimento e estudos de estabilidade preliminares de emulsões O/A contenco Cetononzacol a 2%. **Acta Scientia Health Sciences**, v.30, n.2, p. 121-128, 2008.

CAVALLI, R.; CAPUTO, O.; CARLOTTI, M.E.; TROTTA, M.; SCARNECCHIA, C.; GASCO, M.R. Sterilization and freeze-drying of drug-free and drug-loaded solid lipid naoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v.148, p;47-54, 1997.

CHEN, H.;CHANG, X.; DU, D.; LIU, W.; LIU, J.; WENG, T.; YANG, Y.; XU, H.; YANG, X.Podophyllotoxin-loaded solid lipid nanoparticles for epidermal targeting. **Journal of Controlled Release**, v. 110, n.2, p. 296-306, 2006.

DURÁN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. **Nanotecnologia: Introdução, Preparação, Caracterização de Nanomateriais e Exemplos de Aplicação**. São Paulo: Artliber Editora, 2006. p.161-165.

FANG, J.Y.; FANG, C.L.; LIU, C.H.; SU, Y.H. Lipid nanoparticles as vehicles for topical psoralen delivery: Solid lipid nanoparticles (SLN) versus nanostructured lipd carries (NLC). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,** v. 70, p. 633-640, 2008.

FARAJI, A.H., WIPF, P. Nanoparticles in cellular drug delivery.**Bioorganic &*Medicinal Chemistry,*** v.17., p. 2950-2962, 2009.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J.P.; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 55, p. R1-R4, 1989.

GARG, N.K.; SHARMA, G.; SINGH, B.; NIRBHAVANE, P.; KATARE, O.P. Quality by design (QbD)-based development and optimization of a simple, robust RP-HPLC method for the estimation of methotrexate**. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 38, p. 1629-1637 2015

GOMES, M.J.; MARTINS, S.; FERREIRA, D. SEGUNDO, M.A.; REIS S. Lipid nanoparticles for topical and transdermal application for alopecia treatment: development, physicochemical characterization, and in vitro release and penetration studies. **International Journal of Nanomedicine**, v.9, p. 1231-1242, 2014.

GUO, T. ; ZHANG, Y. ; ZHAO, J. ; ZHU, C. ;FENG, N. Nanostructured lipid carriers for percutaneous administration of alkaloids isolated from Aconitum sinomontanum.**Journal of Nanobiotechnology**, v.13, n. 47, 2015.

GUTERRES, S.; ALVES, M.; POHLMANN, A. R, Polymetric Nanoparticles, Nanosphere and Nanocapsules, for Cutaenous Applications. **Drug Target Insights,**v.2, p.1-11, 2007.

HAN, F.; LI, S.; YIN, R.; LIU, H.; XU, L. Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: Nanostructered lipd carriers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 315, p. 210-216, 2008.

JENNING, V.; MÄDER, K.; GOHLA, S.H. Solid lipid nanoparticles (SLN™) based on binary mixtures of liquid and solid lipids: a 1H-NMR study. **International Journal of Pharmaceutics**v. 205, n. 1-2, p.15–21, 2000.

JIMENEZ, M. M.; PELLETIER, J.; BOBIN, M. F.; MARTINI, M. C. Influence of encapsulation on the in vitro percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 272, n. 1-2, p. 45–55, 2004.

KHALIL, R.M.; ADB-ELBARY, A. ;KASSEM, M.A.; GHORAB, M.M.; BASHA, M. Nanostructured lipid carriers (NLCs) versus solid lipid nanoparticles (SLNs) for topical delivery of meloxicam. **Pharmaceutical Developmentand Technology,** v. 19, n. 3, p. 304-314, 2014.

KOVACEVIC, A.; SAVIC, S.; VULLETA, G.; MÜLLER, R.H.; KECK, C.M. Polyhydroxy surfactants for the formulation of lipid nanoparticles (SLN and NLC): Effetcs on size, physical stability and particle matrix structures. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 406, n. 1-2, p. 163-172,2011.

LIU, K.; TANG, Y.H.; GAO, C.; LI, Y.Y.; CHEN, S.D., XIONG, T.; LI, J.; DU, M.; GONG, Z.Y.; CHEN, H.; LIEGANG, L.; PING, Y. Characterization and biodistribution*in vivo*of quercetin-loaded cationic nanostructured lipid carriers.**Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,** v. 115, p. 125-131, 2014.

LUFTI, G. Preparation and characterization of nocodazole-loaded solid lipid nanoparticles. **Pharmaceutical Development and Technology,** v. 19, n. 6,p. 671-676, 2014.

MANEA, A.M.; VASILE, B.S.; MEGHEA, A. Antioxidant and antimicrobial activities of green tea extract loaded into nanostructured lipid carriers. ***Comptes Rendus Chimie,***v.17, n. 4, p. 331-341, 2014.

MANJUNATH, K.; VENKATESWARLU, V. Pharmacokinetics, tissue distribution and bioavailability of nitrendipine solid lipid nanoparticles after intravenous and intraduodenal administration. **Journal of Drug Targeting**, v.14, p.632-645, 2006.

MARANHÃO, R.A., História da Nanotecnologia. **Scientiarum História. Anais do 1° Congresso de História das Ciências e das Técnicas e Epistemologia.** Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.3p.

MARCATO, P.D.; DURAN, N. New asptects of nanopharmaceutical delivery systems. **Journal of Nanoscience an Nanotechnology.** v.8, n.5, p. 2216-2229, 2008.

MARTO, J; GOUVEIA, L.F.; GONÇALVES, L.M.; GASPAR, D.P.; PINTO, P.;MATOS, J.R; MACHADO, L.D.B. Introdução à Análise Térmica e Termogravimetria. (Cap. 11), In:

CANEVAROLO JUNIOR., S.V., (Ed.) **Caracterização de Polímeros: determinação do peso molecular e análise térmica**, São Paulo: Artliber Editora, 2004, p.209-228.

MENG, F.; ASGHAR, S.; XU, Y.; WANG, J.; JIN, X.; WANG, Z.; WANG, J.; PING, Q.; ZHOU, J.; XIAO, Y. Design and evaluation of lipoprotein resembling curcumin-encapsulated protein-free nanostructured lipid carrier for brain targeting**. International Journal of Pharmaceutics,** v.506, p. 46-56, 2016.

MERTINS, O. Desenvolvimento e caracterização de nanovesículas lipossômicas compósticas de fosfatidilcolina, da lecitina de soja e quitosana. 2004, 78.p.**Dissertação (Mestrado em Química)** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.

MICHALUN, N.; MICHALUN, M. V. **Dicionário de ingredientes para cosmética e cuidados da pele.** 3. ed., São Paulo: Editora SENAC São Paulo, 2010, p. 135.

MOGHIS U. AHMAD, M.U.; ALI, M.S.; AHMAD, I. Applications of nanotechnology in pharmaceutical development. **Lipids in Nanotechnology,** p. 171-190, 2012.

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic anddermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 1, p. 131-155, 2002.

MÜLLER, R.H. Lipid nanoparticles: recent advances.***Advanced Drug Delivery* Reviews,** v. 59, n. 6, p. 375-376, 2007.

MÜLLER, R.H.; PETERSEN, R.D.; HOMMOSS, A.; PARDEIKE, J. Nanostructured lipid carriers (NCL) in cosmetical dermal product. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.59, n.6, p.522-530, 2007.

NICULAE, G.; LACATUSU, L.; BADEA, N.; MEGHEA, A.; STAN, R. influence of vegetable oil on the synthesis of bioactive nanocarriers with broad spectrum photoprotection. **Central European Journal of Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 837-850, 2014.

PARDEIKE, J.; HOMMOSS, A.; MÜLLER, R.H. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic pharmaceutical dermal products. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 366, p. 170-184, 2009. Bind DNA, steptavidin and biotinylated ligands. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 62, n.2, p.155-162, 2006.

PEDERSEN, N.; HANSEN, S.; HEYDENREICH, A.V.; KRISENSEN, H.G.; POULSEN, H.S. Solid lipd nanoparticles can effectively

PEIXOTO, A.C.B. Funcionalização de nanopartículas poliméricas para a liberação de medicamentos sítio-dirigida [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.

PRESTES P.S.; SCORISA J.M.; GUIMARAES GN; OLIVEIRA TA; PIRES-DE-CAMPOS M.S.M; POLACOW MLO; NASCIMENTO G.G.F; CHORILLI M.; LEONARDI G.R. Desenvolvimento e comportamento reológico de formulações cosméticas contendo cristais líquidos. In: **Anais do 21º Congresso Brasileiro de Cosmetologia. 2007**. São Paulo –SP: Associação Brasileira de Cosmetologia, 2007. (CD-ROM).

RIBEIRO, A.M.; KHURY, E.; GOTTARDI, D. Validação de testes de estabilidade para produtos cosméticos. In: CONGRESSO NACIONAL DE COSMETOLOGIA, 10, São Paulo, 1996. **Anais.** São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, 1996. p.349-375.

SABZICHI, M.; SAMADI, N.; MOHAMMADIAN, J.; HAMISHEHKAR, H.; AKBARZADEH, M.; MOLAVI, O.Sustained release of melatonin: A novel approach in elevating efficacy of tamoxifen in breast cancer treatment. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,** v. 145, p. 64-71, 2016.

SAH, A.K; SURESH, P.K. Recent advances in ocular drug delivery, with special emphasis on lipid based nanocarriers. **Recent Patents on Nanotechnology,** v.9, p. 94-105, 2015.

SCHAFFAZICK, S.R.; GUTERRRES, S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidadefísico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para a administração de fármacos.**QuímicaNova**, v.26, n.5, p. 726-737, 2003.

SILVA, M.A.S; KELMANN, R.G; FOPPA, T; CRUZ, A.P; BERTOL, C.D; SARTORI, T; GRANADA, A; CARMIGNAN, F; MURAKAMI, F.S. Thermal analytical study of fluoxetine hydrochloride. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 87, n.2, p. 463-467, 2007.

SOPPIMATH, K. S., AMINABHAVI, T. M.. KULKARNI, A. R., RUDZINSKI, W. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal of Controlled Release,** v. 70, n.1-2, p. 1-20, 2001.

SURESH, G.; MANJUNATH, K.; VENKATESWARLU, V.; SATYANARAYANA, V. Preparation, characterization and in vitro and in vivo evoluation of lovastatin solid lipid nanoparticles. **AAPS PharmSciTech**, v.8, p.162-170, 2007.

TEERANACHAIDEEKUL, V.; BOONME, P.; SOUTO, E.B.; MÜLLER, R.H.; JUNYAPRASERT, V.B. Influence of oil content on physicochemical properties and skin distribution of Nile red-loaded NLC. **Journal of Controlled Release**, v. 128, p. 134-141, 2008.

TEWA-TAGNE, P.; BRIAÇON, S.; FESSI, H. Preparation of redispersible dry nanocapsules by means of spray-drying: development and characterization. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 30, p.124-135, 2007.

TRADOS T. Applicationof rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsion. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.108-9, p. 513-522,2004.

ÜNER, M.; RADTKE, M.; WISSING, S.A. Solid lipid nanoparticles and nanostructure lipid carriers. **Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology**, v.10, n. 1, p. 43-56, 2007.

VAUTHIER, C.; DUBERNET, C.; FATTAL, E.; PINTO-ALPHANDARY, P. C.. Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 55, p. 519-548, 2003.

VITORINO, C.; ALMEIDA, A.; SOUSA, J.; LAMARCHE, I.; GOBIN, P.; MARCHAND, S.; COUET, W.; OLIVIER, J.C.; PAIS, A. Passive and active strategies for transdermal delivery using co-encapsulating nanostructured lipid carriers: *In vitro vs. in vivo* studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,** v. 86, n. 2, p. 133-144, 2014

WANG, J.M; TANG, J.G..; ZHOU, X.F.; XIA, Q. Physicochemical characterization, identification and improved photo-stability of alpha-lipoicacid-loadednanostructuredlipid carrier. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.40, n.2, p. 201-210, 2014.

ZHANG, X.; LIU, J.; QIAO, H.; LIU, H.; NI, J.; ZHANG, W.; SHI, Y. Formulation optimization of dihydroartemisinin nanostructured lipd carrier using response surface methodology. **Powder technology**, v. 197, p.120-128, 2010.

CAPÍTULO III

SISTEMAS CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS CONTENDO ÓLEO DA POLPA E ÓLEO DA AMÊNDOA DA BOCAIUVA (*Acrocomia aculeata*): Avaliação do potencial citotóxico e fator de proteção solar *in vitro*

RESUMO

O envelhecimento da pele é um processo complexo composto por fenômenos seqüenciais que promovem alterações estruturais e funcionais. Existem diferentes vias que conduzem ao fotoenvelhecimento e os seus mecanismos ainda não foram totalmente elucidados. Porém, sabe-se que a formação de espécies reativas de oxigênio (radicais livres), a indução de metaloproteinases na matriz e o fato do crescimento (TGF-β) refletem aspectos centrais desse processo. Conhecendo, mesmo que parcialmente, oprocesso do envelhecimento, os seus fatores intrínsecos e extrínsecos relacionados aos radicais livres, e a exposição solar, é possíveljustificar a intensidade das pesquisas edas descobertas de novos insumos com potencial atividade antioxidante, bem como, produtos que possuem ação fotoprotetora. Esses têm papel fundamentalno combate aos radicais livres e conseqüentemente no retardo do envelhecimento precoce. A exposição da pele à radiação UV (RUV) induz a expressão, principalmente, de metaloproteinases e essas proteínas são capazes de degradar completamente colágeno dérmico. Nessa etapa do trabalho foi avaliada a atividade fotoprotetora do sistema carreador lipídico nanoestruturado contendo o óleo da polpa da bocaiúva (NCL3), da amêndoa da bocaiúva (NCL4), e o potencial citotóxico da formulação NCL3. Com o propósito comparativo, os ensaios foram conduzidos utilizando formulação de referência (NCLB), cuja composição não tinha os óleos da bocaiuva e o lipídio líquido utilizado foi o TCCA. Os sistemas foram aditivados dos filtros químicos: octrocrileno e avobenzona. Na avaliação da atividade fotoprotetora *in vitro* dos sistemas nanocarreadores lipídicos, o melhor resultado foi aquele para o sistema carreador lipídico nanoestruturado contendo o óleo da amêndoa da bocaiuva, aditivada do filtro químico (NCL8). O fator de proteção solar (FPS) de 14 da formulação base aumentou 31 quando adicionou-se ao sistema 20% p/p da NCL8. Para o sistema carreador lipídico nanoestruturado contendo apenas o óleo da amêndoa, o resultado também foi satisfatório, obtendo-se FPS de 27. As formulações NCLB e NCL3 apresentaram a mesma primeira concentração não citotóxica (0,098%) e a formulação NCL7 (contendo o OCT/AVO) apresentou a primeira concentração citotóxica em 0,024%, demonstrando faixa menor de segurança para aplicação em culturas celulares. Considerando a composição química dos óleos da bocaiuvaapresentados no **Capítulo** 1, rico em ácidos graxos, oligoelementos, terpenos e β-caroteno, acredita-se que há elevado potencial de utilização dos óleos desse fruto em formulações de uso tópico com ação antioxidante, e coadjuvante de formulação para dispersão de filtros químicos, promovendo o aumento da ação fotoprotetora.

Palavras-chaves: nanocarreador lipídico, sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados, óleo da amêndoa da bocaiuva, óleo da polpa da bocaiuva, fotoproteção, citotoxicidade

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Pele e envelhecimento cutâneo: aspectos gerais

A pele é o maior e mais extenso órgão do corpo humano e determina o limite com o meio externo. Atinge 16% do peso corporal e exerce múltiplas funções, entre as quais podemos citar: a regulação térmica, a prevenção da perda de água transepidermal, a defesa orgânica, o controle do fluxo sanguíneo, a proteção contra diversos agentes exógenos e funções sensoriais (calor, frio, pressão, dor e tato). É constituído basicamente por três camadas: epiderme, derme e hipoderme **Figura 1**.(HADI *et al*., 2015;JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; BOER *et al*., 2016).

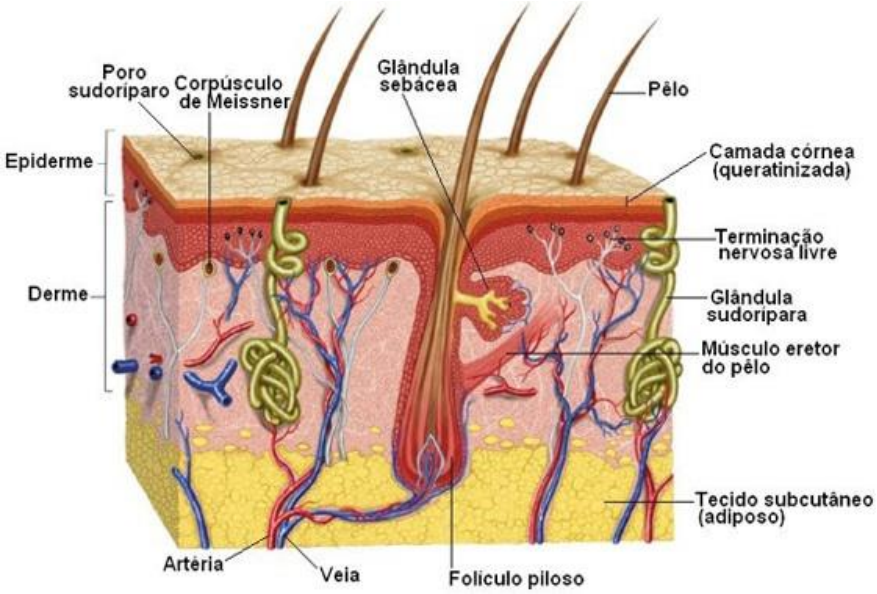


Figura 1. Estrutura Histológica da Pele. Acessado em 07/07/2016 (http://www.auladeanatomia.com/novosite/sistemas/sistema-tegumentar)

A camada mais externa é a epiderme, composta por tecido epitelial pavimentoso queratinizado. A epiderme é constituída pelas seguintes camadas: basal, espinhosa, granulosa e córnea. A camada basal também é conhecida como germinativadevido a sua intensa atividade mitótica, sendo esta responsável pela constante renovação da epiderme. Algumas das funções da camada basal são: camada espinhosa, com células poligonais, cubóides ou

ligeiramente achatadas, tem como função a manutenção da coesão das células da epiderme e resistência ao atrito;camada granulosa, rica em matriz extracelular, importante para torná-la impermeável a água e outras moléculas;camada Lúcida, presentes na pele glabra, ela apresenta células achatadas, de aspecto hialino, contendo enzimas auto-digestivas, responsáveis pela destruição de suas organelas citoplásmicas e seus núcleos; camada córnea, com a presença de células achatadas, mortas e sem núcleo, cujo citoplasma é repleto de queratina, rica em ligações dissulfeto (S-S).

A epiderme, além dessas camadas importantes, apresenta três tipos de células: melanócito, que produz o pigmento melanina; langerhans, células de defesa; e merkel, que agem como receptores táteis.

A outra camada é a derme, constituída de tecido conjuntivo. Esse tecido é rico em fibras colágenas e elásticas, na qual a mesma encontra apoio; vasos sanguíneos e linfáticos; nervos e terminações nervosas. Pode apresentar espessura variável e tem como principais funções a resistência, (por meio da papila dérmica) e a elasticidade da pele. As papilas dérmicas facilitam a nutrição das células epidérmicas pelos vasos sanguíneos da derme (HADGRAFT, 2001; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Por último, a hipoderme. Camada mais profunda da pele, formada por tecido conjuntivo frouxo, que une de maneira pouco firme a derme aos órgãos subjacentes. Possui camada variável de tecido adiposo, que proporciona proteção contra o frio (GOLDSMITH, 1990; EDWARDS & MARKS, 1995; BECHELLI & CURBAN, 1975; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A pele diz muito sobre a identidade e a maneira com a qual o indivíduo se apresenta ao mundo, com toda a sua beleza, cor, marcas e cicatrizes. Na velhice, por exemplo, são as rugas que expressam no rosto senil,o passar do tempo,ejustamente por querer manter a aparência mais jovial que as pesquisas na área de antienvelhecimento são incessantes, motivando consumidor e produtor na busca por tecnologias inovadoras.

O envelhecimento da pele é um processo complexo composto por fenômenos seqüenciais que promovem alterações estruturais e funcionais. Existem muitas vias que conduzem ao fotoenvelhecimento e esses mecanismos ainda não são muito bem elucidados, porém, sabe-se que a formação de espécies reativas de oxigênio (radicais livres), a indução de metaloproteinases na matriz e o fato de crescimento (TGF-β) refletem aspectos centrais do envelhecimento da pele (TYLMAN et al., 2016; DOREN, 2015; PITTAYAPRUEK *et al.*,2016; IMOKAWA & ISHIDA, 2015; NEWTON *et al.*,2015; REHMAN, KONDO & SHIMIZU, 2015; TEWARI *et al.*, 2014; LESIAK *et al.*, 2016).

Os tecidos conjuntivos são compostos por células e matriz extracelular, a qual consiste de substância fundamental e fibras. A matriz extracelular é composta principalmente de colágeno I e III, elastina, proteoglicanos e fibronectina. Na pele exposta à radiação UV, pode-se observar a desorganização das fibras de colágeno, aumento da produção de elastina com depósitos prejudiciais, diminuição da quantidade de colágenio I e III e a junção dermo-epidérmica é achatada, além de sua função também ser afetada (TYLMAN et al., 2016; DOREN, 2015; PITTAYAPRUEK *et al.*,2016; IMOKAWA & ISHIDA, 2015; NEWTON *et al.*,2015; REHMAN, KONDO & SHIMIZU, 2015; TEWARI *et al.*, 2014; LESIAK *et al.*, 2016).

A nível molecular, a pele envelhecida é acompanhada por maior produção de metaloproteinase, levando a degradação da matriz extracelular. As metaloproteinases de matriz (MMPs) são enzimas proteolíticas que têm a capacidade para degradar o colágeno, fibras elásticas e outras proteínas localizadas dentro do tecido conjuntivo. A sua atividade biológica é modulada principalmente por inibidores tecidulares de metaloproteinases de matriz (TIMP) (TYLMAN et al., 2016; DOREN, 2015; PITTAYAPRUEK *et al.*,2016; IMOKAWA & ISHIDA, 2015; NEWTON *et al.*,2015; REHMAN, KONDO & SHIMIZU, 2015; TEWARI *et al.*, 2014; LESIAK *et al.*, 2016; HAAKE *et al.*,2004) As MMPs são classificadas como colagenases, gelatinases, estromelisinas e MMPs do tipo membrana. Com base na sua estrutura e especificidade do substrato, que podem ser categorizadas em cinco subgrupos principais: (1) colagenases (MMP-1, MMP-8 e MMP-13); (2) as gelatinases (MMP-2 e MMP-9); (3) estromelisinas (MMP-3, MMP-10 e MMP-11); (4) matrilisinas (MMP-7 e MMP-26); e (5) do tipo membrana (MT) MMPs (MMP-14, MMP-15, e MMP-16). As MMPs estão envolvidas em muitos eventos fisiológicos e patológicos proteolíticas incluindo embriogênese, cicatrização de feridas, inflamação, angiogênese e câncer. Em numerosos estudos foi demonstrado que a exposição da pele à radiação UV (RUV) induz a expressão, principalmente, de três metaloproteinases: colagenase, gelatinase de 92 KD e a estromelisina 1. Essas proteínas são capazes de degradar completamente o colágeno dérmico. O processo é iniciado por MMP-1 (colagenase-1). A MMP-1 cliva o colágeno tipo I, que é posteriormente degradado por outras enzimas. Após clivado, o colágeno I desnatura-se formando a gelatina que é degradada pela MMP-2 e MMP-9 (COTRIM et al. 2002; STAMENKOVIC, 2000). Tewari e colaboradores (2014),evidenciou que a MMP-1, MMP-3 e MMP-9 são enzimas colagenolíticas UV-indutível primárias de iniciação da degradação de colágneos fibrilares, na pele humana.

Além das metaloproteinases, a literatura recenterelata a catepsina e a progerina como as mais novas proteínas envolvidas no processo do envelhecimento. As catepsinas são um grupo de proteases com atividades colagenolíticas e elastinolítica, mas o seu papel na pele envelhecida pela luz é apenas parcialmente conhecida. Progerinaconstitui forma anormal de lamina A. Em estudos recentes, essa proteína é conhecida por sua participação no processo de fotoenvelhecimento da pele.

Outra via de envelhecimento é o complexo de TGF-β / Smad. Factor de crescimento transformante-beta (TGF-β) é o principal regulador da síntese de colágeno na pele. Tem sido relatado que a irradiação UV também prejudica a sinalização TGF-β / Smad regulando negativamente a transcrição. Lesiak e colaboradores (2016), realizou estudo para comparar os efeitos da exposição RUV (radiação UV)em férias de curto período e o tempo de duração da exposição à radiação UV, na expressão de MMP-8, β1 TGF e Smad2, em biópsias de pele humana. Nesse estudo, os autoresconcluiram que a diminuição na expressão de TGF-β1 e Smad2 consiste de biomarcador persistente do fotoenvelhecimento da pele, enquanto que o aumento da expressão de MMP-8, em queratinócitos, pode ser considerado como marcador da exposição aguda ao sol.

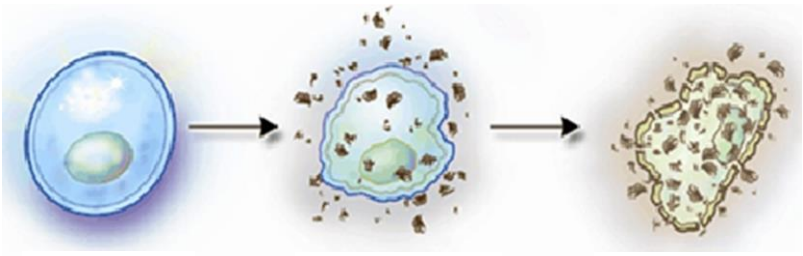
1.2 Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo

O envelhecimento cutâneo pode ser acelerado (envelhecimento precoce) com reações de oxidações químicas e enzimáticas, que envolvem a formação de radicais livres (RL). Os radicais livres por atuarem na desidrogenação, hidroxilação e na glicaçãoprotéica podem ocasionar danos ao DNA (HIRATA, 2004).

Os RL são espécies químicas na forma de átomo ou moléculas, que possuem elétron desemparelhado (elétrons não pareados) na sua órbita mais externa. Essa situação implica em alta instabilidade energética e cinética, e o objetivo desse elétron desemparelhado é se manter estável. Para isso, precisam doar ou retirar um elétron de outra molécula (WICKENS, 2001; KOHEN, 1992),e dessa formaocorre o dano celular (**Figura 2)**.

Muitas formas de câncer são consideradas como o resultado de reações entre radicais livres e DNA, promovendo mutações que podem afetar negativamente o ciclo celular e, potencialmente, levar a malignidade (Mei-Ren et al., 2016; BIANCHI E ANTUNES, 1999). Além disto, os radicais livres que promovem o processo de envelhecimento, tambémforam

relacionados com as doenças cardíacas, mal de Parkinson e Alzheimer (VELLOSA et. al. 2007).



Células normais | Células atacadas por radicais livres | Células com estresse oxidativo

Figura 2. Demonstração do ataque de radicais livres às células normais e o efeito do Estresse oxidativo. Acessado em 24/05/2016 (http://www.ortomoleculardrhigashi.med.br)

A formação de RL conduz ao estresse oxidativo, processo no qual reações em cadeia originarão alterações em proteínas extracelulares e a modificações celulares. O maior dano causado pelo estresse oxidativo é a peroxidação dos ácidos graxos constituintes da dupla camada lipídica. Esses fenômenos podem inclusive levar à morte celular (FERREIRA & MATSUBARA, 1997). A principal fonte endógena de radicais livres é o próprio oxigênio.Na reação de oxidação nas mitocôndrias, estima-se que de 1 a 2% dos elétrons são perdidos durante o transporte, originando a formação de superóxido (O_2^-) e conseqüentementea outras como o peróxido de hidrogênio e radicais hidroxilas (HIRATA *et al*. 2004).

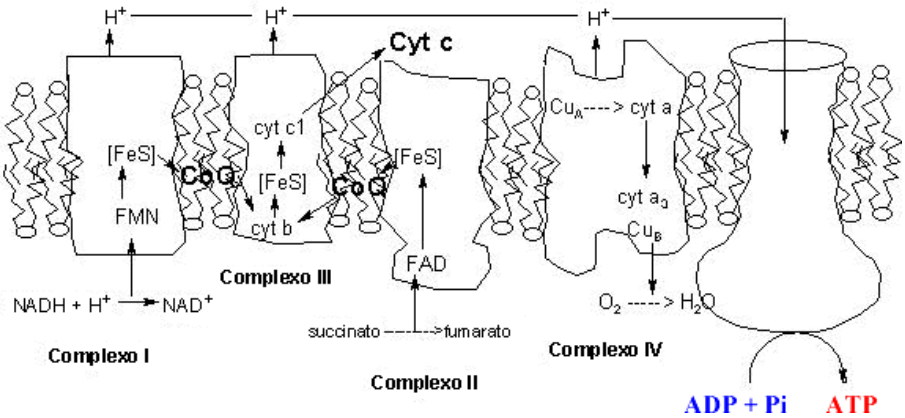


Figura 3. Transporte de elétrons mitocondrial. Acenssado em 17/05/2016

(http://dc151.4shared.com/doc/LkbLVHPA/preview.html)

Algumas mitocôndrias podem apresentar deficiências enzimáticas na cadeia respiratória, liberando quantidades excessivas de radicais livres para o citoplasma, expondo o núcleo e outros componentes celulares ao oxigênio reativo (SHARMA& MORGAN, 2001).

Outros processos endógenos também são fontes de radicais livres: fagocitose durante o processo de inflamação, ativação do metabolismo de ácido araquidônico e enzimas.

A enzima xantina oxidase, que converte a xantina em ácido úrico, também converte o oxigênio em superóxido, já a enzima óxido nítrico sintase(NOS) pode produzir radicais nitro (NO) diretamente na pele.

Fatores exógenos importantes como fontes de radicais livres são: radiação ultravioleta e alguns fatores ambientais; pesticidas, fumaça de carro, cigarro, medicamentos, sedentarismo.

Os danos celulares são tão grandes quando “atacados” pelos radicais livres, que o nosso organismo possui dois importantes sistemas de defesa: enzimáticos e a dos antioxidantes de baixo peso molecular.

Os sistemas enzimáticos incluem a superóxido dismutase, catalase e glutationa peroxidase que detoxificam, respectivamente, os radicaisperóxido, peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos. Durante o metabolismo oxidativo normal nas mitocôndrias, as enzimas da matriz manganês superóxido dismutase (MnSOD) e glutationa peroxidase, eliminam os radicais livres produzidos (HIRATA et al, 2004).

O sistema de defesa não enzimático inclui os carotenóides, o ácido ascórbico (vitamina C hidrossolúvel); α-tocoferol (vitamina E lipossolúvel), ubiquinol (coenzima Q-10) e substâncias quelantes de íons metálicos. Com o decorrer da idade, há um declínio na eficiência desses sistemas de proteção e isso pode indicar que a geração dos radicais livres e a queda dessas defesas, tem papel significativo no envelhecimento.

Conhecendo, embora com limitações, o processo do envelhecimento, os seus fatores intrínsecos e extrínsecos relacionados aos radicais livres, e a exposição solar, pode-se entender o porquê de tantas pesquisas para a descobertas de novos insumos com potencial atividade antioxidante, bem como produtos que possuam ação fotoprotetora. Essestêm papel de fundamental importância no combate aos radicais livres e,conseqüentemente, no retardo ao envelhecimento precoce.

Considerando a composição química dos óleos da Bocaiúva, apresentados anteriormente no **capítulo** 1, rico em ácidos graxos,oligoelementos, terpenos e beta-caroteno, acredita-se que háelevado potencial de utilização dos óleos desse fruto em formulações de uso

tópico com ação antioxidante e fotoprotetora. Nesse último caso, sua função é decoadjuvante de formulação para dispersão de filtros químicos, promovendo ação sinérgica fotoprotetora.

2 OBJETIVOS

i) Preparação dos sistemas carreadores lipídicos contendo o óleo da polpa ou amêndoas da bocaiuva;

ii) Preparação dos sistemas carreadores lipídicos contendo o óleo da polpa ou amêndoas da bocaiuva aditivadas de filtro químico;

iii) Avaliação do potencial citotóxico dos sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa da bocaiúva comparado à formulação de referência;

iv) Avaliação da fotoproteção*in vitro* dos sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa da bocaiúva e da amêndoa da bocaiúva

3 MATERIAL

3.1 Equipamentos

Agitador de Tubos vortex, labdancer, IKA®;

Agitador Magnético com aquecimento, modelo Q261, Quimis®;

Agitador magnético com aquecimento, Quimis®, Q261

Agitador Mecânico, modelo T25 basic, KikaLabortechnik®;

Agitador ULTRA Turrax®, IKA T 50

Balança analítica (precisão 1mg-220g), Shimadzu®;

Balança semi-analítica ,Shimadzu®;

Centrifuga Excelsa Baby I 206, Fanem®

Centrífuga, VWR™ – Modelo Galaxy 16D

Cubetas de quartzo, com 1cm de caminho ótico;

Embalagens de vidro com tampas de plástico capacidade de 100 g

Embalagens plásticas de PVC opacas com capacidade de 30g, Vepakum;

Espectrofotômetro UV-2000S Labsphere®;

Espectrofotômetro UV-VIS Evolution 600®;

Espectrofotômetro, GENESYS™, Rochester, USA, SPECTRONIC®20

Estufa com graduação de temperatura entre 0 a 100^{0} C, Nova Ética®

Estufa com graduação de temperatura entre 0 a 100^{0} C, Nova Ética®;

Filtro 142 WW MILLIPORE®;

Homogeneizador de alta pressão, Alitec A10®

Geladeira, Electrolux®,Infinity DF80X

Peagâmetro, Quimis®

Placa aquecedora com agitação, Quimis®

Placa de poli-metilmetacrilato (PMMA)

Potenciômetro, Quimis®

Purificador de Água, Milli Q®

Termo-Higrômetro 7666 - Incoterm®

Termômetro decimal, escala de 0 a 100^0 C, Modelo 5097, Incoterm®

Ultracentrífuga, - Modelo Galaxy16D, VWRTM®

Zetasizer Nano Zs – Malvern Instruments, Malvern®

3.2 Matérias-primas, solventes e reagentes

Acetona P.A. Synth®;

Avobenzona, G.F.,

Água purificada Milli-Q®;

Fibroblato Humano, Corning Inc, New York)

Lauril Sulftato de Sódio G.F., Merck®

Lecitina de Soja Pó, G.F., (*Lecithin)*, Mapric®;

Polímero de metiloxirano com oxirano G.F. (Lutrol micro 68 MP®), Basf;

Monoestearato de sorbitano G.F. (Span60®), J.T. Baker;

Monooletado de sorbitano G.F. (Monoestearato de sorbitano), J.T. Baker;

MTT, 3-(4,5 dimetil-2-tiazol)2-,5-difenil-brometo de tetrazólio, Basf

Octocrileno, G.F.,

Óleo da polpa de bocaiúva, Cocal Brasil®;

Óleo da amêndoa da bocaiúva, G.F.,Cocal Brasil®;

Palmitato de Cetila, Mapric®;

Poli(ε-caprolactona), P.A.,Sigma Aldrich®;

Triglicérides de ácido cáprico-caprílico, G.F.,Mapric®

4 MÉTODOS

4.1 Preparação dos sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa da bocaiúva

Para a realização dos ensaios descritos nos objetivos i)Avaliação *"in vitro"* da atividade antioxidante dos sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa da bocaiúva comparado à formulação de referência; ii) Avaliação do potencial citotóxico dos sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da polpa da bocaiúva comparado à formulação de referência e iii) Avaliação do FPS *in vitro* ,foram preparadas as formulações nanocarreadoras lipídicas conforme descritas na **Tabela 1**¸ tendo como referência base as formulações inicialmente propostas na **Tabela 4** (**Capítulo 2**).

Os componentes da fase oleosa foram transferidos na proporção conforme a **Tabela 1**, para obter quantidade final de 100 g. Em um béquer de 250 ml foi preparada a fase oleosa constituída de: palmitato de cetila (ácido graxo saturado); o triglicérides dos ácidos cáprico/caprílico (ácido graxo insaturado); o óleo da polpa ou óleo da amêndoa da Bocaiuva e a lecitina de soja. Nas formulações aditivadas com filtros químicos (octocrileno + avobenzona, proporção 7:3) esses foram adicionados na fase oleosa. A fase oleosafoi aquecida com auxílio de placa de aquecimento até a temperatura de 85°C(HAN *et al*., 2008). Em outro béquer de 250 mL, foram transferidas a água, o Lutrol® e o Monoestearato de sorbitano (Fase Aquosa). A fase aquosa foi homogeneizada com auxílio do agitador magnético a 500 rpm, a 85,0°C por aproximadamente 5 minutos (até completa dispersão dos tensoativos). A fase aquosa foi dispersa na fase lipídica, sob agitação mecânica (8000 rpm) utilizando agitador Turrax®, de modo a formar uma pré-emulsão (TEERANACHAIDEEKUL *et al*., 2008). Esta pré-emulsão foi submetida à homogeneização a alta pressão,utilizando cinco ciclos sucessivos a 500 bar (HAN *et al*., 2008). A massa final de cada lote foi de 100 g.

Tabela 1. Formulações nanocarreadoras lipídicas contendo o óleo da polpa da bocaiuva, ou óleo da amêndoa da bocaiuva e aditivadas com octocrileno/avobenzona

Componentes	NCL B	NCL B + UV	NCL3	NCL4	NCL7	NCL8
	Fase lipídica % (p/p)					
TACC	4,0	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Palmitato de Cetila	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Lecitina de soja pó	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Óleo da polpa da bocaiúva	0,0	0,0	4,0	0,0	4,0	0,0
Óleo da amêndoa da bocaiúva	0,0	0,0	0,0	4,0	0,0	4,0
OCT/AVO 7:3	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	1,0
	Fase Aquosa % (p/p)					
Lauril sulfato de sódio	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Lutrol micro 68 MP®	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Monoestearato de sorbitano	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Agua Purificada Milli-Q® qsp	83	82	83	83	82	82

Legenda: TACC: triglicerídes de ácido cáprico caprílico; Avo: avobenzona ; Oct: Octrocrieleno

A formulação de referência proposta na **Tabela 3 (Capítulo II)** foi contemplada nessa etapa de trabalhopara comparar com o desempenho das formulações acrescidas dos óleos em estudo, sendo essa, denominada nessa etapa de NCL B (nanocarreador lipídica branco). Além disso, com base na formulação de referência (NLC B), foram adicionados os filtros químicos (octocrileno e avobenzona), sendo denominado de NCL B + UV. As formulações selecionadas para estudo no **Capítulo II** foram (NLC 3 e NCL 4). Nessas foram acrescidos os filtros químicos e assim designados de NCL 7 e NLC 8 respectivamente.

A caracterização físico-química das formulações foi realizada de acordo com os procedimentos descritos no item 4.3 do **Capítulo II**.

As formulações nanopartículas poliméricas não foram desenvolvidas nesta fase do trabalho. As razões para exclusão destas são: utilização de solventes orgânicos no seu preparo, elevado tempo desprendido no processo e baixo rendimento.

4.2 Avaliações do potencial citotóxico

O método utilizado para avaliação do potencial citotóxico foi MTT. O ensaio do MTT é um método colorimétrico que tem como objetivo quantificar a atividade mitocondrial por meio da redução do sal 3-(4,5 dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-brometo de tetrazólio (MTT), de cor amarela, resultando na formação de cristais de formazan, de cor púrpura, em células metabolicamente ativas (MOSMANN, 1983).

O ensaio foi realizado em parceria com a empresa Chemyunion de acordo com a metodologia descrita a seguir, para as amostras NLC Branco, NLC 3 e NLC 7.

4.2.1 Cultura de Fibroblastos

Fibroblastos Humanos criopreservados foram semeados em garrafas de 75 cm2 (CorningInc, NewYork, NY), cultivados e expandidos até pelo menos a quinta passagem, em estufa úmida a 37°C empresença de 5% de CO_2, utilizando meio de cultura específico. Ao atingirem aproximadamente 80-90%Deconfluência, as células foram tripsinizadas (Trypsin-EDTA solution), neutralizadas, centrifugadas (220x g) por 10 minutos, contadas em câmara de Neubauer e semeadas em placas 96 poços (Nunc, USA)para posterior incubação com o produto-teste e avaliação do potencial citotóxico (CHEMYUNION, 2016).

4.2.2. Determinação da viabilidade celular (citotoxicidade)

A viabilidade celular foi determinada por método colorimétrico que utiliza o corante MTT (3-(4,5dimethyl thiazole-2yl)-2,5 *diphenyltetrazolium*bromide) (Sigma Chemical, St. Louis, Mo.), queconverte-se de brometo de tetrazolium amarelo (MTT) para formazan azul pela enzima succinatodesidrogenase mitocondrial nas células viáveis. Fibroblastos humanos foram semeados na densidade de1x104 células/poço em placas de 96 poços (Nunc, Roskilde, DM). Os produtos-testes NCL BRANCO, NCL 3 e NCL 7 foram dissolvidos no meio de cultura e adicionados à placa em uma diluição seriada na faixa de 0,0004 a 50,0%(p/v). A cultura foi incubada por um período de 48 horas e o MTT foi então adicionado à cultura naconcentração de 5 mg/mL (50 µL/poço) a qual foi incubada por mais 4 horas. A absorbância de cadapoço foi determinada a 570 nm em um leitor de microplacas. A taxa de morte celular foi expressa emporcentagem, conforme **Equação 1** abaixo:

$$\% \text{ células mortas} = 100 - \left(\frac{\text{absorbância da amostra (poço tratato)}}{\text{absorbância do controle}} \right) \quad \textbf{(1)}$$

Tabela 2. Escala para classificação do potencial citotóxico estabelecido intralaboratorialmente para ativos e produtos cosméticos:

% de células mortas	classificação
>50%	Citotoxicidade importante
>25% à ≤50%	Citotoxidade moderada
<25%	Citotoxicidade negligível ou pouco importante

4.3 Avaliação do fator de proteção solar *in vitro*

A eficácia fotoprotetora *in vitro* da ***i)*** formulação base e ***ii)***formulação base aditivada comdiferentes NLCs, foram avaliadas pelo espectrofotômetro equipado com detector tipo esfera de integração (UltravioletTransmittanceAnalyzer®, UV-2000S, Labspheres, US). As amostras foram aplicadas separadamente na face rugosa das placas de PMMA (poli-metilmetacrilato), na quantidade de 0,75 mg/cm^3. Esperou-se a secagem o filme formado, em temperatura ambiente (22,0 ± 2,0ºC), por 30 minutos. As NLC´s foram adicionadas na concentração de 20% na formulação base (**Tabela 4)**.

Com as amostras**Tabela 3** devidamente secas nas placas, realizaram-se as leituras diretamente no equipamento, em nove pontos distintos, obtendo-se então os valores de absorbância (UV). O software do equipamento (UV2000), a partir dos valores obtidos das absorbâncias, calculou o Fator de Proteção Solar *in vitro*, o comprimento de onda crítico (λc) e a razão UVA/UVB. (COMITÉ DE LIAISON DES INDUSTRIES DE LA PARFUMERIE, 2007; COUTEAU *et al.*., 2007; FERRERO *et al.*, 2006; FERRERO *et al.*, 2010; PISSAVINI *et al.*, 1993; SPRINGSTEEN *et al.*, 1999; VELASCO *et al.*, 2008).

Tabela 3. Avaliação da eficácia fotoprotetora

Amostra	Concentração da NCL incorporada à FB % (p/p)
FB	0
FB + NLC B	20
FB + NLC B/UV	20
FB + NLC 3	20
FB + NLC 4	20
FB + NLC 7	20
FB + NLC 8	20

Legenda: FB. Formulação base

Tabela 4. Formulação Base FPS - ~ FPS 15

Composição	INCI	Concentração (p/p) %
Parsol MCx	Ethylhexyl Methoxycinnamate	3
Nipagin	Methylparaben	0,1
Tinosorb S	Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenol Triazine	1,5
Eusolex 4360	Benzophenona-3	3
Dry Flo PC	Aluminium Starch Ostenylsuccinate	3
Tween 80	Polysorbate 80	0,75
Nipazol	Propilparaben	0,1
Dióxido/Óxido de Zinco	Não aplicável	1,8
Água Purificada qsp		100 ml

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Caracterizações físico-químicas dos nanocarreadores lipídicos

Os sistemas carreadores lipídicos nanoestruturadoscontendo o óleo da polpa ou amêndoas da bocaiuva, aditivadas ou não com os

filtros químicos foram caracterizados determinando-se o diâmetro médio (DHM) de partícula, o índice de polidispersividade (PI), potencial zeta e pH.

Tabela 5. Caracterização físico-química dos nanocarreadores lipídicos

	Análises realizadas				
	Potencial zeta		pH	DHM	PdI
Formulação	**50µS/Cm**	**Meio original**			
NCL B	51,7±2,42	-50,7±1,56	7,5	144,4±0,920	0,228±0,005
NCL B UV	46,9±1,76	-50,6±1,98	7,4	188,4±2,166	0,229±0,007
NCL3	58,7±0,90	-64,6±4,20	6,4	114,4±2,004	0,427±0,016
NCL4	47,8±2,13	-52,3±1,80	6,0	156,0±1,422	0,256±0,005
NCL7	63,5±5,73	-65,1±3,61	5,8	106,9±1,636	0,353±0,032
NCL8	52,5±0,64	-56,7±2,46	5,6	185,2±2,138	0,248±0,012

As formulações apresentaram valores semelhantes para o potencial zeta e diâmetro médio quando comparados aos ensaios realizados no capítulo 2 para NCL 3 e NCL 4. Esse resultado foi obtidopara lote do óleo e condição de preparação diferentes. Nessa etapa a pré-emulsão foi submetida a cinco ciclos no homogeneizador a alta pressão. Portanto, pode observar a robustez do processo.

As formulações contendo o filtro químico NCL B UV e NCL 8, tiveram seu diâmetro aumentado em comparação com a formulação original. A formulação NCL 7 teve seu tamanho reduzido. Lacatusu e colaboradores (2014), em estudo com óleos vegetais, também relatou valores menores de nanocarreadores desenvolvidos com óleo de abóbora. A formulação sem filtro químico apresentou diâmetro de 137,2nm e encapsulado com

OCT/AVO, apresentou o diâmetro de 108,5 nm. Segundo o artigo, esse decaimento do diâmetro da partícula, pode ser justificado pelo rearranjo da matriz lipídica durante o processo de encapsulação (LACATSU *et al.*, 2014).

O pH das formulações contendo os óleos da boaciuva, apresentavam valor mais ácido em relação à formulação desenvolvida apenas com triglicerides de ácido cáprico caprílico. No trabalho realizado por Bianchin e colaboradores(2015), os autores sugeriram que os resultados menores de pH se devem às interações do grupos amônio formados por protonação dos átomos de nitrogênio da molécula do fármacocom o grupo carboxilato formado por doação de protãos a partir do ácido oleico (BIANCHIN et al., 2015). O óleo da polpa e da amêndoa da bocaiuva são ricos em ácido oleico, podendo, dessa maneira, justificar a redução do pH quando comparado ao NLC B.

Lacatusu e colaboradores(2014),observou que a polidispersividade teve variação entre 0,147 e 0,288. O PdI nessa etapa de trabalho, para NCL 3 e NCL 7, apresentaram valor superior a faixa considerada adequada, diferente também dos valores observados no capítulo 2, para NCL 3. A ausência de uniformidade para essa leitura pode estar relacionada ao fato do óleo vegetal da polpa da bocaiuva ser obtido por extrativismo vegetal enão ser submetido a qualquerprocesso químico para sua purificação. Dessa forma, espera-se que o óleo contenha“pequenos fragmentos” do mesocarpo (polpa) influenciando essa característica.

5.2 Avaliação da citotoxicidade

Foram realizados os ensaios de citotoxicidade para a formulação NCL branco, NCL óleo da polpa (NCL 3) e NLC óleo da polpa + os filtros químicos OCT/AVO (NCL7). A princípio foram selecionadas essas formulações com base nos resultados apresentados para o FPS do óleo da polpa expostos no capítulo 2, nos quais, o óleo da polpa apresentou fator de proteção solar superior ao óleo da amêndoa. A seguir estão apresentados os resultados obtidos no ensaio de citotoxicidade **Figuras 4** (NCL Branco),**5**(NCL 3) **e 6** (NCL7).

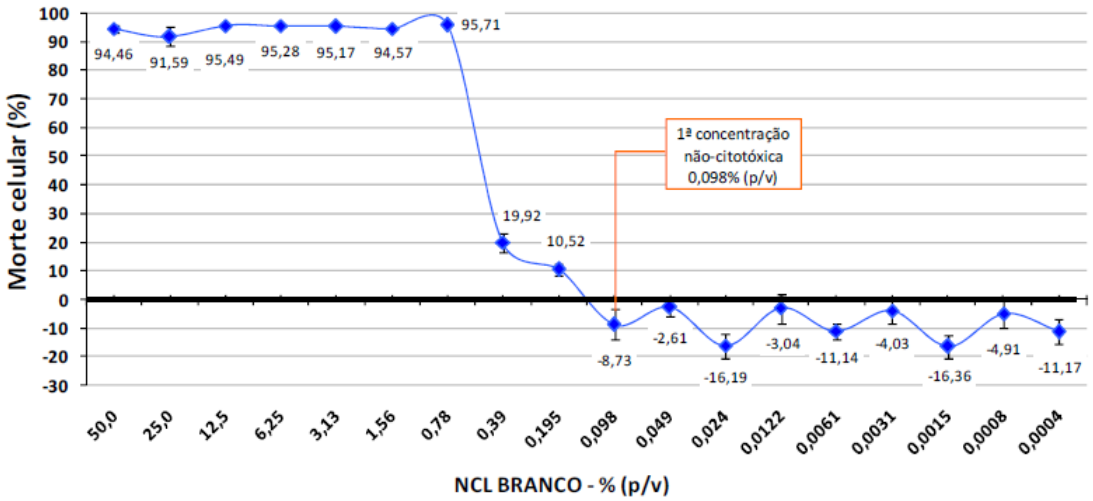


Figura 4. Avaliação do potencial citotóxico (viabilidade celular) NCL Branco – incubadas por 48 h

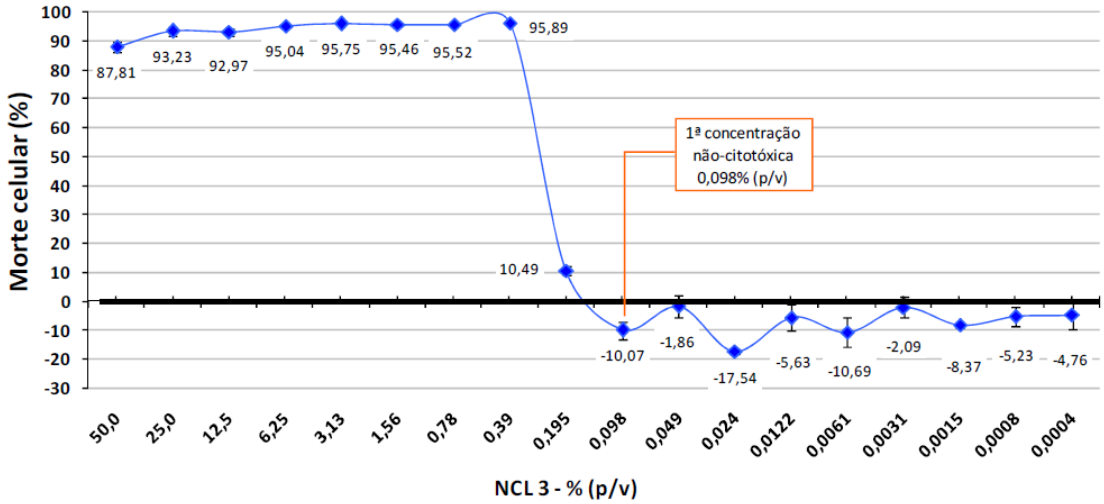


Figura 5. Avaliação do potencial citotóxico (viabilidade celular) NCL 3 – incubadas por 48 horas

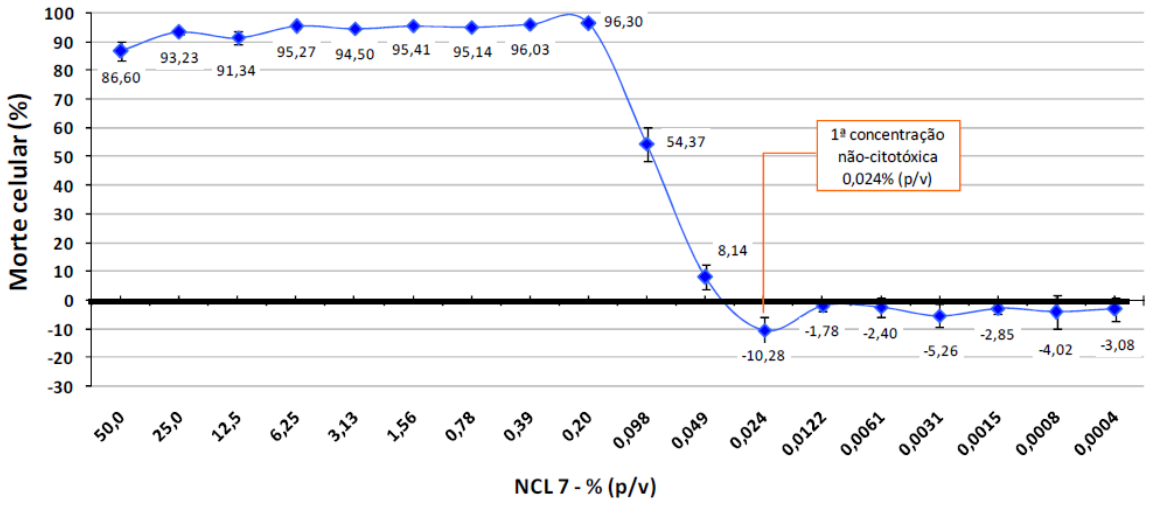


Figura 6. Avaliação do potencial citotóxico (viabilidade celular) NCL 7 – incubadas por 48 horas

De acordo com os resultados apresentados na **Figura 4**, e seguindo a classificação da **Tabela 2,** o sistema nanoestruturado NCL BRANCO apresentou citotoxicidade importante na faixa de concentração de 50 a 0,78% (p/v), a qual foi responsável por redução de até 95,71% da viabilidade celular. A partir da concentração de 0,39 a 0,0004% (p/v) a NCL Branco apresentou citotoxicidade pouco importante ou negligível, mantendo a viabilidade celular próxima ou superior a 100%, quando comparada ao controle, sendo a concentração de 0,098% (p/v) a primeira concentração não-citotóxica. Desta forma, o sistema nanoestruturado NCL BRANCO é seguro para aplicação em culturas celulares em concentrações abaixo de 0,098% (p/v). Considerando-se a faixa de concentração testada de 0,39 a 0,0004% (p/v), a qual exprime citotoxicidade negligível ou pouco importante.

Na **Figura 5**, seguindo a classificação da **Tabela 2**, é possível visualizar que o sistema carreador lipídico NCL 3 apresentou citotoxicidade importante na faixa das concentrações de 50,0 a 0,39% (p/v),a qual foi responsável por redução de até 95,89% da viabilidade celular. A partir das concentraçõesde 0,195 até a concentração de 0,0004% (p/v), NCL 3 apresentou citotoxicidade pouco importanteou negligível, mantendo a viabilidade celular próxima ou superior a 100% quando comparada ao controle,sendo a concentração de 0,098% (p/v) a primeira concentração não-citotóxica do produto NCL 3. O produto-teste NCL 3 é seguro para aplicação em culturas celulares em concentrações abaixo de 0,098% (p/v), considerando-se a faixa de concentração testada de 0,195 a 0,0004% (p/v), a qual exprime citotoxicidadenegligível ou pouco importante.

A **Figura 3** e a **Tabela 2** revelam que o sistema carreador lipídico NCL 7 apresentou citotoxicidade importante na faixa das concentrações de 50 a 0,098% (p/v). Nesse caso, a redução foi de até 96,30% da viabilidade celular. A partir das concentrações 0,049% (p/v) até aconcentração de 0,0004% (p/v), a NLC 7 apresentou citotoxicidade pouco importante ou negligível, mantendo a viabilidade celular próxima ou superior a 100% quando comparada ao controle. A concentração de 0,024% (p/v) foi a primeira concentração não-citotóxica para a preparação NCL 7. O sistema carreador lipídico NCL 7 é seguro para aplicação em culturas celulares em concentrações abaixo de 0,024% (p/v), considerando-se a faixa de concentração testada de 0,049 a 0,0004% (p/v), a qual exprime citotoxicidade negligível ou pouco importante.

As preparaçõesNCL 3 e NCL Branco apresentaram a mesma primeira concentração não citotóxica em 0,098% (p/v). A NCL Branco apresentou intervalo pouco citotóxico ou negligível ligeiramente maior, a partir de 0,39% a 0,0004% e, a preparação NLC 3, a partir de 0,195% (p/v) a 0,0004% (p/v).

No estudo realizado por Winter e colaboradores (2016), no ensaio *in vitro* utilizando linhagens celulares do tipo VERO (células aderentes – macaco – morfologia de fibroblasto) e L 1210 (não aderentes, linfócitos), os autores obtiveram melhores resultados para viabilidade celular nas nanoemulsões e nos carreadores lipídicos nanoestruturados às nanopartículas lipídicas sólidas.Os resultados sugerem que o uso demonoestearato de glicerila (GMS) permite a obtenção de preparação com maior citotoxicidade para as células quando comparado ao triglicéridesde ácido caprílico cáprico.As células VERO apresentaram maior viabilidade celular em todas as formulações quando comparadas às células L1210. Estudos *in vivo* também foram conduzidos nesse mesmo trabalho para determinar a toxicidade dos nanopartículas lipídicas. Os animaisforam tratados com as três formulações por 14 dias, porvia intraperitoneal.Não foram observadas mortes e poucas diferenças de pesonos animais durante o tratamento. A não alteração significativa devários indicadores tais como o peso do corpo e parâmetros bioquímicos apontam que as nanopartículas lipídicas sólidas e carreadores lipídicos nanoestruturados não induzem a toxicidade, ao contrário dos efeitosobservado *in vitro.*O artigo ressaltou a importância da composição lipídica na toxicidade, demonstrando que as linhagens celulares são muito maissensíveis do que os animais ao GMS. Outro ponto importante ressaltado no artigo refere-se aos resultados conflitantes para os ensaio *in vitro e in* vivo. Tal resultado pode evidenciar que os ensaios *in vitro* não são parâmetros para estabelecer faixa de concentração de uso. Dessa maneira, deve-se realizar o ensaio *in*

vivo(WINTER*et al.*, 2016) que não foi o objetivo do presente trabalho. Sage, (1982) demonstrou que o GMS não apresenta citotoxicidade dérmica em coelhos.

O fibroblasto é uma célula constituínte do tecido conjuntivo e responsável pela síntese das proteínas importantes como o colágeno e a elastina, além dos componentes de matriz extracelular, glicosaminoglicanos e as glicoproteínas. O estudo de citotoxicidade no presente trabalho, foi conduzido em células de fibroblastohumanas (aderente) e demonstrou que não houve diferença significativa quando o TACC foi substituído pelo óleo da polpa da bovaiuva. A citotoxicidade superior em comparação às preparações contendo os filtros era esperada. Esses resultados não refletem a concentração que se deve utilizar em produto para uso tópico, sendo que para definir esta concentração é necessário a condução de ensaios *in vivo*. O ensaio *in vitro* foi importante como base comparativa da preparação inicial contendo, óleo consagrado em formulações de uso tópico, o o TACC, e das preparações contendo o óleo da polpa de bocaívua, vegetal proveniente de um fruto do cerrado. Os resultados foram similares para ambas as preparações.

5.3 Avaliação da fotoproteção *in vitro*

Foram realizados testes preliminares para avaliar a ação fotoprotetora dos sistemas nanocarreadores lipídicos contendo o óleo polpa da bocaiúva ou o óleo da amêndoa, bem como estes sistemas aditivados dos filtros químicos octocrileno e avobenzona (OCT/AVO 7:3). Os resultados estão apresentados nas **Tabela 6**.

Tabela 6. Avaliação da atividade fotoprotetora das formulações carreadoras lipídicas nanoestruturadas

AMOSTRA	Fps Médio ± DP	(λc) crítico (nm)	Razão média UVA/B
FB	14 ± 2,65	375	0,627
FB + (NCL B)	12 ± 2,58	373	0,565
FB + NCL B UV	18 ± 2,40	374	0,561
FB + NCL 3	19 ± 2,25	373	0,550
FB + NCL 4	27 ± 2,10	373	0,562
FB + NCL 7	16 ± 2,35	374	0,568
FB + NCL 8	31 ± 2,60	374	0,564

A formulação base apresentou fator de proteção solar (FPS) igual 14. Após a adição de 20% (p/p) da NCL B, houve redução desse fator (FPS 12)e aumento do FPS,quando adicinou-se a NCL B UV (FPS 18). O maior aumento do fator de proteção solar foi obtido para as formulações desenvolvidas com o óleo da amêndoas da bocaiuva. EsSe resultado não era esperado, pois na avaliação preliminar do fator de proteção dos óleos **(capítulo 1)**, o óleo da amêndoas da bocaiuva apresentou reduzido fator de proteção solar (FPS 1), e reduzida razão UVA/B (-0,125). De forma contrastante, o óleo da polpa da bocaiuva, apresentou, em estudo anterior, FPS de 4 e razão UVA/B de 0,43. Esses resultados sugerem que as propriedades físico-químicas das substâncias nanoestruturadas são alteradas de tal forma, que não é possível realizar comparação com o estado inicial da matéria sem a realização de ensaios que os comprove.

Substâncias que possuem anéis aromáticos em suas moléculas como as propiofenonas, derivados do ácido cafeico, lignanas e flavonoides apresentam semelhanças estruturais aos filtros UV, que são empregados em fotoprotetores de uso tópico. Produtos naturais são ricos em moléculas como essas. O extrato de *Kaenpferia galanga* e a quercetina foram avaliadas quanto ao potencial de fotoestabilização dos filtros UV e demonstraram resultados satisfatórios . Gonzales e colaboradores (2007) solicitaram patente de formulação de uso tópico utilizando *Kaenpferia galanga* como fotoestabilizador.

Nikolic e colaboradores (2011) conduziu estudo para avaliar a interação sinérgica entre nanopartículas lipídicas e filtros UV orgânicos, com aumento dodesempenho fotoprotetor.Esse estudo demonstrou que os valores de FPS apresentaram-se 45% mais elevados quando os filtros UV orgânicos foram incorporados em NCLcom cera de carnaúba, em comparação com a referência de nanoemulsão e NCL decera de abelhas. Os dados demostraram que o efeito sinérgico de NCL e filtros solares incorporados depende não só no estado sólido do lípido, mas também do seu tipo.

Dessa forma, os resultados preliminares obtidos no presente trabalho sugerem que os sistemas nanocarreadores lipidicos obtidos com o óleo da amêndoa da bocaiuva promovem melhor interação com a formulação fotoprotetora em estudo.A NCL 3 também apresentou sinergia com a formulação fotoprotetora, elevando de 14 para 19. Porém, houve decaimento da fotoproteção quando a NCL 7 foi adicionada.

Ensaios adicionais devem ser realizados para avaliar se a formulação nanocarreadora lipídica desenvolvida com o óleo da amêndoa da bocaiuva promove, por exemplo,fotoestabilização superior à nanopartícula desenvolvida com o óleo da polpa.

6 CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos, elucidou-se que o sistema nanoestruturado contendo o óleo de polpa de bocaiuva e o sistema contendo triglicérides de ácido cáprico e caprílico apresentaram concentração não-citotóxica igual a 0,098% (p/v). Essa comparação permitiu concluir que o óleo de polpa de bocaiuva pode ser utilizadocomo alternativa em preparações dermocosméticas nanoestruturadas. Tendo em vista a composição do óleo de amêndoa, isento de terpenos e betacarotenos, o sistema lipídico nanoestruturado contendo óleo de amêndoa apresenta potencial citotóxico, no máximo, igual ao sistema lipídico nanoestruturado contendo óleo de polpa de bocaiuva. O sistema lipídico nanoestruturado contendo óleo de polpa de bocaiúva e os filtros químicosoctocrileno e avobenzonarevelou citotoxicidade maior quando comparado aos sistemas lipídicos nanoestruturados, isentos de filtros, conforme esperado.

Quanto à atividade fotoprotetora, os sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o óleo da amêndoa e o óleo da polpa da bocaiuvaquando adicionados na formulação base (FPS 14), emconcentração de 20% p/p, apresentou aumentorespectivamente de92,8% e 35,7 %.

Tais resultados demonstraram interação sinérgica entre a formulação fotoprotetora e o sistema lipídico nanoestruturado contendoo óleo de amêndoa. Dessa maneira, essesistema carreador lipídico nanoestruturado, aditivado com os filtros químicos (NCL8), constitui inovação com aplicação industrial. Essas características permitem a solicitação de patente da invenção.

Para o Brasil, a invenção proporciona uma oportunidade econômica e excelente mecanismo para a indução de políticas públicas, no âmbito social, com capacidade de promover a inclusão de comunidades agrárias na cadeia produtiva do país.

7 REFERÊNCIAS

BECHELLI, L.M.; CURBAN, G.V. **Compêndio de Dermatologia.** São Paulo: Atheneu, 1975. p.19

BIANCHIN, M.D.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I.C.; CATIUSCIA P. DE OLIVEIRA, C.P.; CONTRI, R.D.; GUTERRES, S.S.; POHLMANN, A.R. Radar charts based on particle sizing as an approach to establish the fingerprints of polymeric nanoparticles in aqueous formulations. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**.v.30, p.180e189, 2015.

BOER, M.; DUCHNIK, E.; MALESZKA, R.; MARCHLEWICZ, M. Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function. **Skin Research and Technology,** v.22, p.247-254, 2016.

COMITÉ DE LIAISON DES INDUSTRIES DE LA PERFUMERIE. COLIPA. **Method for the *in vitro* determination of UVA protection provided by sunscreen product.** Brussels, 2007. Disponível em: http://www.colipa.eu. Acesso em: 17 de set. 2011.

COTRIM P.; ANDRADE C.R.; MARTELLI-JUNIOR H.; GRANER, E.; SAUK, J.J.; COLETTA, R.D. Expression of Matrix Metalloproteinases in Cyclosporin-Treated Gingival Fibroblasts Is Regulated by Transforming Growth Factor (TGF)-β1 Autocrine Stimulation.**Journal of Periodontology.** v. 73 (11), p. 1313-1322, 2002.

COUTEAU, C.; FAURE, A.; FORTIN. J.; PAPARIS EVA.; COIFFARD L.J.M. Study of the photostability of 18 sunscreen in creams by measuring, the SPF *in vitro*. **JournalofPharmaceuticalandBiomedicalAnalysis,** v.44, p.270-273, 2007.

DOREN, S.R.V. Matrix metalloproteinase interactions with collagen and elastin. **Matrix Biology**. v.44-46, p.224-231, 2015.

EDWARDS, C.; MARKS, R. Evaluation of biomechanical properties of human skin. **Clinical Dermatology.** v.13, p. 375-380, 1995.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Revista da Associação Médica Brasileira. v. 43, p. 61-68, 1997.

FERRERO, L.; PISSAVINI, M.; DEHAIS, A.; MARGUERIE, S.; ZASTROW, L. Importace of substrate roughness for *in vitro* sun protection assessment. **International Federation of Societies of Cosmetic Chemist Magazine,** v.9, n.2, p. 1-13**,**2006.

FERRERO, L.; PISSAVINI, M.; DOUCET, O. How a calculatesmodelo f sunscreen film geometry can axplain*in vitro* and *in vivo* SPF variation. **Photochemical &Photobiological Sciences,** v.9, p. 540-551, 2010.

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

GONZALES, H.D.; PECHKO, A.P.; KALAFSKY, R. **Photostable sunscreen compositions and methods of stabilizing.** United States Patent, n.6.440.402B1, 2007.

HADGRAFT, J. Skin, the final frontier. **International Journal of Pharmaceutics**, v.224, n,1/2, p.1-18, 2001.

HADI H.; AWADH A.I.; HANIF N. M.; SIDIK N. F. A., MOHD RANI M. R. N. ; SUHAIMI M. S. M. The investigation of the skin biophysical measurements focusing on daily activities, skin care habits, and gender differences. **Skin Research and Technology** 2016; 22: 247–254.

HAN, F.; LI, S.; YIN, R.; LIU, H.; XU, L. Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: Nanostructered lipd carriers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 315, p. 210-216, 2008.

HIRATA L.L.; SATO M.E.O.; SANTOS, C.A.M. Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo. **Acta Farmaceutica Bonaerense**. v.23(3), p.418-424, 2004.

IMOKAWA G.; ISHIDA, K. Biological mechanisms underlying the ultraviolet radiation-induced formation of skin wrinkling and sagging I: Reduced skin elasticity, highly associated with enhanced dermal elastase activity, triggers wrinkling and sagging.**International Journal of Molecular Sciences.** v. 16, p. 7753-7775, 2015.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. P. 359-370

LESIAK, A.; ROGOWSKI-TYLMAN, M.; DANILEWICZ, M.; WOZNIACKA, A.; NARBUTT, J.One week's holiday sun exposure induces expression of photoaging biomarkers. **Folia Histochemica et Cytobiologica**. v. 54,p. 42-48, 2016.

MEI-REN P.; KAIYI L.; SHIAW-YIH L.;WEN-CHUN H.; Connecting the Dots: From DNA Damage and Repair to Aging. **International Journal of Molecular Sciences**. v.17, p. 685, 2016.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth an survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunology Methods**, v.65, p. 55-63, 1983.

NEWTON, V.L.; MCCONNELL, J.C.; HIBBERT, S.A.; GRAHAM, H.K.; WATSON, R.E.B. Skin aging: Molecular pathology, dermal remodelling and the imaging revolution (Review). **Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia.** v.150, p.665-674, 2015.

NICULAE, G.; LACATUSU, L.; BADEA, N.; STAN, R.; VASILE, B.S.; MEGHEA, A. Rica bran and raspberry seed oil- based nanocarries with self-antioxidative properties as safe photoprotective formulation. **Photochemical & Photobiological Sciences**. v.13, p. 703-716, 2014.

NIKOLI S.; KECK C.M.; ANSELMI C.; MÜLLER R.H. Skin photoprotection improvement: Synergistic interaction between lipid nanoparticles and organic UV filters. **Pharmaceutical Nanotechnology**. v. 414, p. 276– 284, 2011.

PISSAVINI M.; FERRERO, L.; ALARD, V.; HEINRICH, U.; TRONNIER, H.; KOCKOTT, D.; LUTZ, D.; TOURNIER, V.; ZAMBONIN, M.; MELONI, M. Determinationofthe*in vitro*
SPFPOZO-DÍEZ, R. M. **Estudiodelproceso de fritura de alimentos frescos y congelados prefritos. Comportamento del aceite de semilla de girasol de alto contenidoenacido oleico**. Faculad de farmácia, p. 338, tesis, Unsversidad de Alcalá de Henares, 1995.

PITTAYAPRUEK, P.; MEEPHANSAN, J.; PRAPAPAN, O.; KOMINE, M.; OHTSUKI, M. Role of matrix metalloproteinases in Photoaging and photocarcinogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**. v.17, p. 868-888, 2016

REHMAN, M.U.; KONDO, T.; SHIMIZU, T.**Skin Aging and Photoaging: Physiology, Clinical Aspects and Emerging Therapies**: Ultraviolet-induced photoaging in the skin: The role of inflammatory cytokine, macrophage migration inhibitory factor. 1ed. Nova Science Pub Inc, 2015. p. 165-180.

RUFINO M.S.M.; ALVES R. E.; BRITO E. S.; MORAIS S. M.; SAMPAIO C. G.; FULGENCIO J.P.; CALIXTO D.S.Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico Online – Embrapa.** Fortaleza-CE ISSN 1679-6535. Julho, 2007.

SHARMA P; MORGAN, P.D.; Ascorbate reduces superoxide production and improves mitochondrial respiratory chain function in human fibroblasts with electron transport chain deficiencies**. Mitochondrion,** v.1,p.191-198, 2001.

SPRINGSTEEN, A.; YUREK, R.; FRAZIER, M.; CARR, K.F. In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance. **AnalyticaChimica Acta,** v. 380, p.155-164, 1999.

TEERANACHAIDEEKUL, V.; BOONME, P.; SOUTO, E.B.; MÜLLER, R.H.; JUNYAPRASERT, V.B. Influence of oil content on physicochemical properties and skin distribution of Nile red-loaded NLC. **Journal of Controlled Release**, v. 128, p. 134-141, 2008.

TEWARI, A.; GRYS, K.; KOLLET, J.; SARKANY, R.; YOUNG, A.R.Upregulation of MMP12 and its activity by UVA1 in human skin: Potential implications for photoaging**. Journal of Investigative Dermatology**. v.134, p.2598-2609, 2014.

TYLMAN, M.R.; NARBUTT, J.; WOZNIACKA, A.; LESIAK, A. Molecular aspects of skin aging. Literature review**. Przegląd Dermatologiczny.** v.103, p.139-142, 2016.

VELASCO, M.V.R.; BALOGH, T.S.; PEDRIALI, C.A.; SARRUF F.D.; PINTO,C.; KANEKO, T.M.; BABY, A.R. Associação da Rutina com *p*-Metoxicinamato de Octila e Benzofenona-3: Avaliação *In Vitro* da Eficácia Fotoprotetora por Espectrofotometria de Refletância**. Latin American JournalofPharmacy,**v.27 n.1, p. 23-7, 2008.

VELLOSA J. C. R.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres. Revista Eletrônica de Farmácia. v. 5, n. 2, p. 119-130, 2007

WICKENS, A. P. Ageing and the Free Theory. Respiration Physiology, Amsterdam, v. 128, n. 3, p. 379-391, 2001

WINTER E.; PIZZOL C.D.; LOCATELLI C.; CREZKYNSKI-PASAT.B. Development and Evaluation of Lipid Nanoparticles for Drug Delivery: Study of Toxicity In Vitro and In Vivo. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology.** v. 16, 1321–1330, 2016.