



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Maria Clara Dantas da Costa Lima

**AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO *IN VITRO* DO ÁCIDO FERÚLICO EM
FORMULAÇÕES COSMÉTICAS UTILIZANDO MEMBRANA SINTÉTICA E
BIOMIMÉTICA**

NATAL – RN

2019

Maria Clara Dantas da Costa Lima

**AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO *IN VITRO* DO ÁCIDO FERÚLICO EM
FORMULAÇÕES COSMÉTICAS UTILIZANDO MEMBRANA SINTÉTICA E
BIOMIMÉTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Elissa Arantes Ostrosky
Coorientadora: Msc. Fernanda Ílary Costa Duarte

NATAL –RN

2019

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Sistema de Bibliotecas – SISBI

Catálogo de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro Ciências da Saúde - CCS

Lima, Maria Clara Dantas da Costa.

Avaliação da liberação in vitro do ácido ferúlico em formulações cosméticas utilizando membrana sintética e biomimética / Maria Clara Dantas da Costa Lima. - 2019. 26f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia. Natal, RN, 2019. Orientadora: Elissa Arantes Ostrosky.

1. Ácido Ferúlico - TCC. 2. Liberação cutânea - TCC. 3. Célula de Franz - TCC. 4. Cosméticos - TCC. I. Ostrosky, Elissa Arantes. II. Título.

RN/UF/BS-CCS

CDU 547.636.7

Elaborado por ANA CRISTINA DA SILVA LOPES - CRB-15/263

**Avaliação da liberação *in vitro* do ácido ferúlico em formulações cosméticas
utilizando membrana sintética e biomimética**

Maria Clara Dantas da Costa Lima

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Elissa Arantes Ostrosky

Coorientadora: Msc. Fernanda Ílary Costa Duarte

Presidente: Profa Dra. Elissa Arantes Ostrosky, UFRN – Orientadora

Profa Dra. Cristiane Fernandes de Assis, UFRN

Prof Dr. Adley Antonini Neves de Lima, UFRN

NATAL – RN

2019

RESUMO

O ácido ferúlico (AF) é um composto fenólico, sendo constituinte vegetal presente na parede celular das plantas, reconhecido por conferir fotoproteção e ação antioxidante, neutralizando os radicais livres que podem causar danos oxidativos às membranas celulares e DNA. No desenvolvimento de formulações tópicas e cosméticas, os ensaios de liberação cutânea são realizados em pequeno período de tempo, possuem baixo custo e boa reprodutibilidade dos resultados, permitindo resultados preliminares para a aplicação de novas substâncias ativas. Desta forma, este estudo tem como objetivo avaliar a liberação de formulações cosméticas gel e gel-creme contendo 0,5% de AF através de células de difusão de Franz, utilizando membrana sintética e membrana impregnada com solução lipóide. A liberação do AF foi quantificada diretamente através de CLUE (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência). Nas condições experimentais avaliadas, constatou-se que a formulação gel liberou uma maior quantidade de ativo em menor intervalo de tempo, enquanto que a formulação gel-creme apresentou uma liberação menor e mais lenta. Ao final do estudo, foi possível observar que possivelmente esse comportamento ocorreu devido à característica lipofílica do AF, que favorece uma liberação mais rápida quando em meio predominantemente aquoso como a formulação gel. A membrana biomimética (impregnada) conferiu maior resistência à difusão da AF, provocando comportamentos de liberação distintos entre as formulações, entretanto, essa diferença não invalida seu uso, onde a escolha da formulação ocorre de acordo com as finalidades pretendidas.

Palavras-chaves: Ácido Ferúlico. Liberação cutânea. Célula de Franz.

ABSTRACT

Ferulic acid (PA) is a phenolic compound, being a plant constituent present in the cell wall of plants, recognized for conferring photoprotection and antioxidant action, neutralizing free radicals that can cause oxidative damage to cell membranes and DNA. In the development of topical formulations, the cutaneous release assays are a fast, low-cost test, which enable preliminary results for application of new active substances. Thus, this study aims to evaluate the release of gel and cream gel cosmetic formulations containing 0.5% AF through Franz diffusion cells, using synthetic membrane and impregnated membrane with lipid solution. AF release was quantified directly through UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatograph). Under the evaluated experimental conditions, it was found that the gel formulation released a greater amount of active in a shorter time interval, while the gel-cream formulation presented a smaller and slower release. At the end of the study, it was possible to observe that possibly this behavior occurred due to the lipophilic characteristic of PA, which favors a faster release when in predominantly aqueous environment such as gel formulation. The biomimetic membrane (impregnated) conferred greater resistance to the diffusion of PA, causing distinct release behaviors between formulations, however, this difference does not invalidate its use, where the choice of formulation occurs according to the intended purposes.

Key-words: Ferulic acid. Skin release. Cell of Franz.

1. Introdução

Nos últimos 25 anos, os estudos relacionados a pele humana vêm se desenvolvendo consideravelmente (Lephart, 2016). Desde então, ocorreu o aperfeiçoamento de novas tecnologias, que proporcionam o desenvolvimento de formulações cosméticas que possam intervir nos sinais visíveis de fotoenvelhecimento. Mesmo o processo de envelhecimento sendo natural, o objetivo consiste em prevenir e retardar este processo, através de formulações que promovam melhora na integridade da pele (Tobin, 2017; Baumann, 2018).

Dentre os fatores que envolvem o envelhecimento da pele, o estresse oxidativo é apontado como influência direta. A exposição aos raios UV causa uma produção excessiva de radicais livres que aumentam os níveis celulares de espécies reativas de oxigênio (ERO's). Dessa maneira, a radiação contribui para queimadura solar, fotocarcinogênese e fotoenvelhecimento (Zhang et al., 2010; Lephart, 2016).

A utilização de antioxidantes na prevenção e cuidado do envelhecimento é uma abordagem eficaz e válida, levando em consideração que eles aumentam a resistência da pele ao estresse oxidativo, protegendo-a contra os radicais livres (Masaki, 2010). Diante desse contexto, o ácido ferúlico (AF) ou ácido 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-propanoico é um composto fenólico reconhecido por conferir fotoproteção e ação antioxidante (Bacanli et al., 2014; Mancuso & Santangelo, 2014). Considerado um constituinte vegetal presente na parede celular das plantas (farelo de graminíneas), o AF também possui atividades farmacológicas, como anti-inflamatória, anticancerígena e hepatoprotetora (Graf, 1992; Kumar; Pruthi, 2014). Sua atividade resulta em efeitos terapêuticos significativos, havendo estudos *in vitro* e *in vivo* sobre a associação desse ácido à produtos cosméticos que evidenciam sua segurança e eficácia, assim como confirmam seu potencial na proteção da pele contra danos oxidativos mediados por radiações UV (Saija et al., 2000; Alias et al., 2009; Itagaki et al., 2009). No entanto, possui propriedades físico-químicas desfavoráveis, sendo fotoinstável, além de possuir baixa solubilidade aquosa. Assim, a veiculação do AF em formas farmacêuticas é limitada, podendo decompor-se em produtos inativos induzidos pela luz e/ou ERO's (Couteal; Mathaly, 1997; Strazisar; Andrensek; Šmidovnik, 2008; Monti et al., 2011).

Estudos *in vitro* são abordagens imprescindíveis para o desenvolvimento de medicamentos e produtos cosméticos, pois costumam ser efetivos na predição da resposta biológica e apresentam maior reprodutibilidade (Corti et al., 2005; Haq et al., 2018). São realizados, muitas vezes, utilizando células de difusão. As membranas podem ser de origem natural, proveniente de tecidos humanos e de animais, ou ainda, células e sistemas artificiais, utilizando membranas sintéticas, que possuem poros onde a substância ativa pode se difundir facilmente até o meio receptor. A avaliação destas membranas permite a determinação da estrutura e caracterização de suas propriedades, sendo comumente usadas membranas com base em derivados de celulose (Arellano et al., 1998; Csóka et al., 2005; Djordjevic et al., 2005; Edgar et al., 2001; S.-F. ng et al., 2010; S Özer et al., 2007).

O sistema que utiliza células de Franz é uma abordagem experimental eficaz que avalia a cinética de liberação e permeação, estimando a liberação *in vitro* do ativo através da pele. Além disso, ao ser comparado a outras técnicas, possui vantagens por possuir baixo custo, boa reprodutibilidade dos resultados e realização em pequeno período de tempo (Simon et al., 2016; Leveque, et al., 2004; Engesland et al., 2013).

Dessa forma, foi utilizada a membrana biomimética obtida por meio da membrana sintética impregnada com substâncias lipídicas, com o objetivo de mimetizar a barreira cutânea, simulando a composição lipídica *in vivo* do estrato córneo, favorecendo assim, um estudo preditivo da liberação e permeabilidade da substância ativa na pele (Leveque et al., 2004; Simon et al., 2016).

Diante desse contexto, o presente estudo propõe avaliar a liberação *in vitro* do ácido ferúlico em sistema de células de difusão de Franz, utilizando membrana sintética e membrana impregnada (biomimética) em formulações cosméticas gel e gel-creme. A quantificação do ativo foi realizada por CLUE-DAD (Cromatografia Líquida de Ultra-Eficiência).

2. Material e Métodos

2.1 Materiais

Para a preparação das formulações, as matérias primas utilizadas estavam de acordo com a denominação da International Nomenclature of Cosmetic Ingredient - INCI (Cosing, 2013), sendo indicadas a seguir: ácido ferúlico (Henrifarma®); Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer (Lubrizon®); Dissodium EDTA (DEG, SP, Brasil); Polyacrylamide (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7; Methylparaben (Mapric, SP, Brazil); Phenoxyethanol (and) Methylparaben (and) Ethylparaben (and) Butylparaben (and) Propylparaben (and) Isobutylparaben; Propylene Glycol (Synth®, SP, Brazil); Ethoxydiglycol (Viafarma®) e água destilada.

2.2 Métodos

2.2.1 Preparação das formulações cosméticas

A composição das formulações gel e gel-creme estão listadas na tabela 1. Os componentes foram determinados com base no estudo de compatibilidade entre o AF e os excipientes utilizados em formulações semi-sólidas realizadas por Bezerra et al, 2016.

A formulação gel-creme foi obtida pelo método de emulsificação a frio, na qual um béquer com solução com conservante e a quantidade total de água da formulação foi vertido sobre o outro béquer com o AF incorporado aos demais componentes. Em seguida a formulação foi submetida sob agitação mecânica à 600 rpm durante 30 minutos. A formulação gel foi obtida através da solubilização dos componentes hidrofílicos na quantidade total de água da respectiva formulação com agitação manual da fase aquosa em uma chapa aquecedora até 70°C. Posteriormente o conteúdo aquoso (após atingir 45°C) foi vertido a um béquer contendo AF homogeneizado com trivalin e propilenoglicol. Houve a pulverização, dispersão e neutralização do polímero gelificante, e em seguida a formulação foi submetida a agitação mecânica por 30 minutos à 300 rpm. Logo após, as formulações foram deixadas em repouso por 24 horas antes de serem submetidas a testes subsequentes. Foram manipulados três lotes de cada formulação para em seguida serem submetidos aos estudos de liberação *in vitro*.

As formulações cosméticas avaliadas no estudo de liberação do AF foram previamente submetidas a testes de estabilidade preliminar e acelerada para verificar parâmetros como características organolépticas, pH e viscosidade (dados não publicados).

2.2.2 Estudo de liberação cutânea *in vitro* do AF em formulações cosméticas

2.2.2.1 Impregnação da membrana sintética

A membrana filtrante de acetato de celulose com tamanho de poro 0,1 μm , porosidade de 75% e espessura de 150 μm (modelo VCWP04700, Milipore®) foi utilizada nesse estudo. A impregnação da membrana foi realizada utilizando uma solução lipídica constituída por colesterol (Sigma®) 2,10%, lipoid E80® 1,70% e 1-octanol (Synth®) 96,2% segundo o estudo experimental de Corti et al., (2005). Após homogeneização, a solução foi armazenada em frasco de vidro âmbar e refrigerada a $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

As membranas de acetato de celulose foram cortadas com um diâmetro de 1 cm. As membranas foram lavadas antes da impregnação submersas em tampão fosfato pH 7,4 durante 120 minutos. Em seguida as membranas foram retiradas da solução e o excesso de tampão foi removido com papel absorvente. Após a lavagem, as membranas foram submersas na solução lipídica por 120 minutos, secas a temperatura ambiente e armazenadas em tubos Falcon, resfriadas a $4 \pm 2^\circ\text{C}$. Esta lavagem foi realizada para remoção de possíveis sujidades das membranas que poderiam interferir na impregnação homogênea.

2.2.2.2 Teste de liberação *in vitro*

O teste de liberação cutânea foi realizado em células de difusão de Franz, com área de difusão de 1,77 cm^2 e capacidade de 12 mL do compartimento receptor. As células de Franz foram preparadas inserindo a membrana entre os compartimentos doador e receptor. O estudo foi realizado utilizando 2 tipos de membranas, a sintética (membrana não impregnada) e a biomimética (membrana impregnada).

Em seguida, foram adicionados 0,3 g da formulação com 0,5% (p/p) de AF no compartimento doador. O compartimento receptor foi preenchido com 12 mL de solução de PBS + 2,5% de Tween 80 pH 7,4. O fluido receptor foi mantido a $32 \pm 1^\circ\text{C}$ sob

agitação constante a 300 rpm. Alíquotas de 1ml foram removidas em intervalos de tempo 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 horas. Após a retirada de cada amostra, a mesma quantidade foi repostada no compartimento receptor para manter a condição *sink*. Os ensaios foram realizados em quadruplicata e expressos em valores médios \pm desvio padrão (DP) para a membrana sintética (MS) e para a membrana biomimética (MB). A quantidade de AF no meio coletado foi determinada por CLUE.

A quantidade acumulada de AF foi calculada usando a área de superfície ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e plotada em função do tempo. O percentual de liberação do ativo foi determinado pela equação 1 (Cavalcanti et al., 2016; Popa et al., 2010):

$$\text{Liberação do ativo (\%)} = R_t / Q \times 100 \quad (1)$$

Onde R_t representa a quantidade cumulativa de AF liberada no tempo t ; Q representa a quantidade inicial de AF na formulação.

2.2.3 Avaliação do teor de AF por Cromatografia Líquida de Ultra-Eficiência (CLUE-DAD)

O método cromatográfico foi previamente validado, sendo executado pelo cromatógrafo de modelo Shimadzu® UFLC-XR (Japão). Zorbax eclipse plus® C18 (50 x 2,1 mm, 1,8 μm) foi usado como coluna cromatográfica. A Fase móvel utilizada constituía-se por acetonitrila PA (ACN): Água acidificada com ácido acético a 2% (12:88 v/v) em modo isocrático. As análises foram realizadas em temperatura a 30 ° C, com fluxo de fase móvel 0,25 mL/min e volume de injeção de 1 μL .

As soluções de trabalho foram filtradas em filtro Millipore® 0,45 μm antes de serem injetadas no equipamento.

2.2.4 Estudo de modelos de cinética de liberação do AF

Para avaliar o modelo cinético de liberação mais adequado, os dados foram analisados em modelos de ordem zero ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$ versus tempo), primeira ordem (log

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$ versus tempo) e Higuchi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$ versus raiz quadrada do tempo). O modelo cinético mais adequado foi selecionado com base no valor de r mais próximo do valor de 1 obtido por regressão linear.

O fluxo de AF através das membranas (J) foi calculado por regressão linear e correspondeu à inclinação na porção linear dos pontos experimentais onde o equilíbrio de difusão já seria alcançado, obtendo-se assim o fluxo no estado estacionário (Premarathne et al., 2016). *Olag time* corresponde ao intercepto obtido quando a linha de estado estacionário foi estendida ao eixo do tempo, sendo definida com o tempo necessário para a passagem de uma substância para atravessar a membrana e atingir o equilíbrio (Aulton, 2005).

O coeficiente de permeabilidade (P) foi calculado dividindo-se o fluxo (J) pela quantidade inicial do fármaco no veículo de acordo com a Equação 2 (Di Cagno et al., 2015):

$$P = J / C_0 \quad (2)$$

Onde P é o coeficiente de permeabilidade, J é o fluxo em estado estacionário e C_0 é a concentração inicial do ativo na formulação.

2.2.6 Análise estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando análise de variância (ANOVA) com nível de confiança de 95% e teste *t*.

3. Resultados

Os ensaios com células de Franz foram realizados para analisar o perfil de liberação do ativo AF em diferentes veículos, bem como a influência da membrana biomimética, através da determinação dos parâmetros cinéticos que caracterizam o processo de liberação. Características e propriedades físico-químicas do veículo e do ativo podem influenciar diretamente na liberação das formulações tópicas.

A liberação do AF das formulações foi aumentando ao longo do período de tempo analisado. Na membrana sintética, as formulações gel-creme e gel apresentaram quantidade liberada do ativo em 0 a $479,28 \pm 37,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ e 0 a $470,74 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \pm 23,3$, respectivamente. Na membrana biomimética, a liberação de AF da formulação gel-creme e gel no mesmo intervalo de tempo, ocorreu de 0 a $413,59 \pm 32,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ e de 0 a $453,54 \pm 33,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ como observado na Figura 1.

A concentração (%) de substância ativa liberada das formulações ao final do experimento utilizando membrana sintética foi de $52,40\% \pm 0,2$ para o gel-creme e de $52,36\% \pm 0,15$ para o gel. Com a membrana biomimética houve liberação do gel-creme de $46,04\% \pm 0,34$ e para o gel de $49,55\% \pm 0,30$. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na quantidade de AF liberada das formulações no ensaio realizado com a membrana sintética, pois apresentaram perfis de liberação semelhantes. Na membrana biomimética, houve diferença significativa ($p < 0,05$). A formulação gel, em todas as condições avaliadas, liberou o AF mais rapidamente.

A análise de regressão linear foi realizada para determinar o modelo cinético que se ajusta ao perfil de liberação do AF nos veículos usados. Três modelos diferentes foram avaliados: ordem zero ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$ versus tempo); Higuchi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$ versus raiz quadrada do tempo); Primeira ordem (log de $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ versus tempo). Os valores de correlação estão descritos na Tabela 2.

Após avaliar os valores de correlação dos coeficientes obtidos a partir dos modelos matemáticos propostos, observou-se que as formulações avaliadas com a membrana sintética se enquadram no modelo cinético de Higuchi. Na biomimética, o gel-creme apresentou cinética de ordem zero e o gel apresentou cinética de Higuchi.

A velocidade de liberação do ativo (fluxo – J), T_L (*lag time*) e o coeficiente de permeabilidade (P) foram determinados com base no modelo cinético de cada formulação e membrana, conforme demonstrado na Tabela 3.

4. Discussão

O modelo cinético de Higuchi relaciona a concentração de acordo com a raiz quadrada do tempo, indicando que a liberação ocorreu por mecanismo de difusão. Assim, a liberação do ativo depende de sua concentração disponível, ou seja, quanto maior a concentração, mais ativo será liberado. Além disso, este modelo também infere que a concentração ativa na formulação é maior que a solubilidade desta na matriz (Higuchi, 1962; Millucci et al., 2012; Premarathne et al., 2016). O modelo cinético de ordem zero na membrana biomimética indicou que a substância ativa é liberada lentamente, independente da concentração do ativo (Djekic et al., 2012).

Formulações com características hidrofílicas podem promover maior liberação de compostos fenólicos quando estes são hidrofóbicos, devido a baixa afinidade da substância ativa com o veículo (Casagrande et al., 2007; Kitagawa et al., 2011; Zillich et al., 2013), o que corrobora com os resultados obtidos no presente estudo.

O AF tem um caráter hidrofóbico, $\log P = 1,67$, (Roleira et al., 2010), portanto, quando presente na formulação gel predominantemente hidrofílica, uma maior liberação e maior fluxo de AF foi observado em um intervalo de tempo menor. O comportamento oposto foi observado no ensaio de liberação do AF em gel-creme, uma vez que a formulação possui conteúdo lipofílico, podendo assim reter o ativo por possuir maior afinidade com o mesmo, resultando em menor liberação e menor fluxo da substância analisada (Saija et al., 2000).

No estudo da liberação do AF utilizando a membrana biomimética na formulação gel-creme, observou-se um aumento significativo no intervalo de tempo necessário para atingir o equilíbrio (TL), bem como a redução do fluxo e coeficiente de permeabilidade ($p < 0,05$). Esses dados corroboram com a cinética de ordem zero definida para o gel-creme na membrana biomimética, uma vez que houve uma liberação mais lenta, possivelmente também devido à afinidade do ativo pelos compostos lipofílicos impregnados na membrana.

O AF foi liberado mais rapidamente e em maiores quantidades da formulação em gel quando comparada a formulação gel-creme, pois, permitiu sua difusão mais rápida ao meio receptor, conforme observado nos parâmetros cinéticos. Contudo, é possível observar que a membrana biomimética conferiu ao teste de liberação maior resistência à

difusão do AF, provocando comportamentos de liberação distintos entre as formulações. Comportamento diferente foi observado no ensaio com membrana sintética, onde as formulações praticamente apresentaram o mesmo perfil de liberação.

Estudos realizados por Corti et al., 2005, utilizando membrana biomimética similar indicaram capacidade preditiva e correlação *in vivo*. Entretanto, o autor não avaliou a influência do veículo na liberação das substâncias ativas utilizando a respectiva membrana.

No estudo de liberação e permeação cutânea de substâncias ativas, o modelo utilizado na passagem de uma ou mais substâncias é a difusão passiva, que representa um tipo de transporte em membranas parcialmente permeáveis e seletivas. Em geral, neste processo, a matéria move-se de uma região do sistema para outra, com gradiente de concentração mais baixo, seguindo um movimento molecular. A difusão ou passagem, através do estrato córneo, ocorre de acordo com três processos simples (Block, 1990; Martin & Bustamante, 1993): a partícula, molécula ou íon deve ser liberada do veículo ou compartimento doador, para a superfície do estrato córneo; a passagem através do estrato córneo é controlada pelo coeficiente de distribuição ou partição; e finalmente a molécula difunde-se através do estrato córneo, sendo a etapa determinante nos estudos de permeação cutânea.

Assim, estudos de correlação *in vitro/in vivo* são almejados para que se avalie a influência do veículo e da membrana no perfil de liberação e permeação do AF, assegurando maior confiabilidade e predição da resposta biológica.

5. Conclusão

Com intuito de conhecer o perfil de liberação do AF em formulações cosméticas, procurou-se estabelecer um sistema simples, com parâmetros que não interferissem na determinação da substância ativa liberada.

Por meio deste estudo foi possível observar que o AF, devido ao seu caráter hidrofóbico, apresentou maior liberação da formulação gel em todas as condições avaliadas, uma vez que a formulação gel é predominantemente hidrofílica. Assim, um gel hidrofílico pode ser mais efetivo para a liberação de substâncias lipofílicas pela probabilidade de não ocorrer interação com os componentes da formulação.

As formulações apresentaram perfis de liberação distintos do AF quando avaliadas nas membranas sintética e biomimética, porém essa diferença comportamental não invalida seu uso, onde a escolha da formulação ocorre de acordo com as finalidades pretendidas.

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por sempre me guiar, me proteger e me abençoar durante toda a minha trajetória nessa vida. Gratidão por tantas oportunidades oferecidas, por todo amor que Ele tem por mim, e por ser minha fortaleza.

À Nossa Senhora que ilumina os meus passos e com todo seu amor de mãe está comigo em todos os momentos me guardando e me acalentando.

Aos meus pais, Lucia e Dantas, por serem minha base. Vocês são exemplo de força, esforço, amor e dignidade na minha vida. Todas as minhas conquistas serão dedicadas a vocês que tanto se dedicaram por mim. Obrigada por serem razão na minha vida, por se esforçarem tanto para eu chegar até onde cheguei. Eu sei que não foi fácil, mas tudo que sou devo a vocês. Amo vocês incondicionalmente e infinitamente.

Aos meus irmãos, Rafaela e Lindolpho, por fazerem parte dos momentos mais importantes na minha vida, e por serem apoio em todos eles.

À Professora Elissa, por ter sido a melhor orientadora que eu poderia ter, e por me mostrar através da sua calma e competência que tudo daria certo. Sua orientação foi fundamental para eu desenvolvesse esse trabalho da melhor maneira. Obrigada por ser um espelho e inspiração para mim.

À minha coorientadora Fernanda, que sempre deu todo apoio e suporte durante esse tempo de pesquisa. Obrigada por tanta dedicação e por se mostrar exemplo de profissionalismo e competência. Você foi fundamental em todos os momentos, sendo minha guia para os melhores caminhos.

À aluna de iniciação científica, Jamile, que esteve presente no desenvolvimento desse trabalho e se tornou uma grande amiga.

Ao Prof. Marcio Ferrari, Prof. Adley Antonini, Prof^ª. Ana Paula Barreto Gomes e Prof^ª. Cristiane Fernandes de Assis pela contribuição e apoio para realização desse trabalho.

À todos que compõem o laboratório de Cosméticos da UFRN pela ajuda na realização dos experimentos.

Referências bibliográficas

ADELAKUN, O. E. et al. Laccase-catalyzed dimerization of ferulic acid amplifies antioxidant activity. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 74, n 1-2, p. 29-35, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2011.08.010>

ALIAS, LINDA MARY et al. Protective effect of ferulic acid on 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene-induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, v. 61, n. 3, p. 205-214, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2008.09.001>

ARELLANO, A., SANTOYO, S., MARTIN, C., YGARTUA, P., 1998. Surfactant effects on the in vitro percutaneous absorption of diclofenac sodium. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 23, 307–312. <https://doi.org/10.1007/BF03189356>

BACANLI, MERVE et al. The protective role of ferulic acid on sepsis-induced oxidative damage in Wistar albino rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, v. 38, n. 3, p. 774-782, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.08.018>

BAUMANN, LESLIE. How to Use Oral and Topical Cosmeceuticals to Prevent and Treat Skin Aging. *Facial Plastic Surgery Clinics*, v. 26, n. 4, p. 407-413, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fsc.2018.06.002>

BEZERRA, G.S.N. et al. Compatibility study between ferulic acid and excipients used in cosmetic formulations by TG/DTG, DSC and FTIR. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 127, n. 2, p. 1683–1691, 2017. doi:10.1007/s10973-016-5654-9

BLOCK, L.H., *Medicated Applications*. In GENNARO, A.R. *Remington's pharmaceutical sciences*. 18.ed., Easton: Mack, 1990. cap.84, p.1596-1602.

CASAGRANDE, R et al. In vitro evaluation of quercetin cutaneous absorption from topical formulations and its functional stability by antioxidant activity. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 328, n.2, p. 183-190, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.08.006>

CAVALCANTI, A.L.M., REIS, M.Y.F.A., SILVA, G.C.L., RAMALHO, Í.M.M., GUIMARÃES, G.P., SILVA, J.A., SARAIVA, K.L.A., DAMASCENO, B.P.G.L., 2016. Microemulsion for topical application of pentoxifylline: In vitro release and in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.* 506, 351–360. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.04.065>

CLARK, AMELIA; HESSLER, Jill L. Skin care. *Facial Plastic Surgery Clinics*, v. 23, n. 3, p. 285-295, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fsc.2015.04.002>

CORTI, G., MAESTRELLI, F., CIRRI, M., ZERROUK, N., MURA, P., 2005. Development and evaluation of an in vitro method for prediction of human drug absorption II. Demonstration of the method suitability 7, 354–362. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2005.11.005>

COUTEAU, D; MATHALY, P. Purification of ferulic acid by adsorption after enzymic release from a sugar-beet pulp extract. *Industrial Crops and Products*, v. 6, p. 237–252, 1997.

CSÓKA, I., CSÁNYI, E., ZAPANTIS, G., NAGY, E., FEHÉR-KISS, A., HORVÁTH, G., BLAZSÓ, G., EROS, I., 2005. In vitro and in vivo percutaneous absorption of topical dosage forms: Case studies. *Int. J. Pharm.* 291, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.07.038>

DI CAGNO, M., BIBI, H.A., BAUER-BRANDL, A., 2015. New biomimetic barrier Permeapad™ for efficient investigation of passive permeability of drugs. *Eur. J. Pharm. Sci.* 73, 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.03.019>.

DJEKIC, L., PRIMORAC, M., FILIPIC, S., AGBABA, D., 2012. Investigation of surfactant/cosurfactant synergism impact on ibuprofen solubilization capacity and drug release characteristics of nonionic microemulsions. *Int. J. Pharm.* 433, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.04.070>.

DJORDJEVIC, L., PRIMORAC, M., STUPAR, M., 2005. In vitro release of diclofenac diethylamine from caprylocaproyl macrogol glycerides based microemulsions. *Int. J. Pharm.* 296, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.02.014>

EDGAR, K.J., BUCHANAN, C.M., DEBENHAM, J.S., RUNDQUIST, P.A., SEILER, B.D., SHELTON, M.C., TINDALL, D., 2001. Advances in cellulose ester performance and application. *Prog. Polym. Sci.* 26, 1605–1688. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00027-2](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00027-2)

ENGESLAND, A., MERETE, S., TERKEL, H., NATASA, G.E.F., 2013. New Applications of Phospholipid Vesicle-Based Permeation Assay: Permeation Model Mimicking Skin Barrier. *J. Pharm. Sci.* 102, 1588–1600. <https://doi.org/10.1002/jps>

GRAF, ERNST. Antioxidant potential of ferulic acid. *Free radical biology and medicine*, v. 13, n. 4, p. 435-448, 1992. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(92\)90184-I](https://doi.org/10.1016/0891-5849(92)90184-I)

HAQ, A., DORRANI, M., GOODYEAR, B., JOSHI, V., MICHNIAK-KOHN, B., 2018. Membrane properties for permeability testing: Skin versus synthetic membranes. *Int. J. Pharm.* 539, 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.01.029>

HIGUCHI, W.I., 1962. Analysis of Data on the Medicament Release from Ointments. *J. Pharm. Sci.* 51, 802–804. <https://doi.org/10.2307/2405552>

ITAGAKI, SHIROU et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of ferulic acid: a comparative study with other natural oxidation inhibitors. *Food Chemistry*, v. 114, n. 2, p. 466-471, 2009. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(92\)90184-I](https://doi.org/10.1016/0891-5849(92)90184-I)

JAYAMANI, JAYARAMAN et al. Ferulic acid, a natural phenolic compound, as a potential inhibitor for collagen fibril formation and its propagation. *International journal of biological macromolecules*, v. 113, p. 277-284, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.225>

KAMMEYER, A.; LUITEN, R. M. Oxidation events and skin aging. Ageing research reviews, v. 21, p. 16-29, 2015.<https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.01.001>

KITAGAWA, S., YOSHII, K., MORITA, S., TERAOKA, R., 2011. Efficient Topical Delivery of Chlorogenic Acid by an Oil-in-Water Microemulsion to Protect Skin against UV-Induced Damage. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). 59, 793–796. <https://doi.org/10.1248/cpb.59.793>

KUMAR, NARESH; PRUTHI, VIKAS. Potential applications of ferulic acid from natural sources. Biotechnology Reports, v. 4, p. 86-93, 2014.<https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.09.002>.

LEPHART, EDWIN D. Skin aging and oxidative stress: Equol's anti-aging effects via biochemical and molecular mechanisms. Ageing research reviews, v. 31, p. 36-54, 2016.<https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.08.001>.

LEVEQUE, N.; MAKKI, S.; HADGRAFT, J.; HUMBERT, P. H.; Comparison of Franz cells and microdialysis for assessing salicylic acid penetration through human skin. Intern J Pharm, v.269, n.2, p.323-328, 2004.<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2003.09.012>

LEVI, KEMAL. UV damage and sun care: deciphering mechanics of skin to develop next generation therapies. Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, v. 28, p. 471-473, 2013.<https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2013.02.008>

MANCUSO, C. & SANTANGELO, R., 2014. Ferulic acid: Pharmacological and toxicological aspects. Food and Chemical Toxicology, (65), pp.185-95.

MARTIN, A., BUSTAMANTE, P. Physical pharmacy: physical chemical principles in the pharmaceutical sciences. 4.ed., Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. cap.13, p.324-361.

MASAKI, HITOSHI. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. Journal of dermatological science, v. 58, n. 2, p. 85-90, 2010.<https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2010.03.003>

MILLUCCI, V., CRISTINA, M., MEMOLI, A., PETRALITO, S., TRAVAGLI, V., ZANARDI, I., 2012. Apparent Solubility and Dissolution Profile at Non-Sink Conditions as Quality Improvement Tools. *Promis. Pharm.* <https://doi.org/10.5772/37656>

MONTI, D. et al. Permeation and distribution of ferulic acid and its α -cyclodextrin complex from different formulations in hairless rat skin. *AAPS PharmSciTech*, v. 12, n. 2, p. 514–520, 2011.

MURRAY, JOHN C. et al. A topical antioxidant solution containing vitamins C and E stabilized by ferulic acid provides protection for human skin against damage caused by ultraviolet irradiation. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 59, n. 3, p. 418-425, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2008.05.004>

NG, S.-F., ROUSE, J.J., SANDERSON, F.D., MEIDAN, V., ECCLESTON, G.M., 2010. Validation of a Static Franz Diffusion Cell System for In Vitro Permeation Studies. *AAPS PharmSciTech* 11, 1432–1441. <https://doi.org/10.1208/s12249-010-9522-9>

ÖZER, Ö., KIVÇAK, B., MUTLU, B., AKAY, S., SAGLAM, H., TÖMEK, S., 2007. In vitro release studies on multiple and simple emulsions of α -tocopherol with Pistacia leaves. *Sci. Pharm.* 75, 97–109. <https://doi.org/10.3797/scipharm.2007.75.97>

PERES, DANIELA D.'ALMEIDA et al. Ferulic acid photoprotective properties in association with UV filters: multifunctional sunscreen with improved SPF and UVA-PF. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 185, p. 46-49, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.05.026>

PREMARATHNE, E.P.N., KARUNARTNE, D.N., PERERA, A.D.L.C., 2016. Controlled release of diclofenac sodium in glycolipid incorporated micro emulsions. *Int. J. Pharm.* 511, 890–898. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.07.047>

POPQ, N., NOVAC, O., PROFIRE, L., LUPUSORU, C.E., POPA, M.I., 2010. Hydrogels based on chitosan-xanthan for controlled release of theophylline. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 21, 1241–1248. <https://doi.org/10.1007/s10856-009-3937-4>

ROLEIRA, F.M.F. et al. Lipophilic phenolic antioxidants: Correlation between antioxidant profile, partition coefficients and redox properties. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, v. 18, n. 16, p. 5816–5825, 2010.<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.06.090>

SAIJA, ANTONELLA et al. In vitro and in vivo evaluation of caffeic and ferulic acids as topical photoprotective agents. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 199, n. 1, p. 39-47, 2000.[https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(00\)00358-6](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(00)00358-6)

SAMBANDAN, DIVYA R.; RATNER, DESIREE. Sunscreens: an overview and update. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 64, n. 4, p. 748-758, 2011.<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2010.01.005>

SHIRAI, AKIHIRO; YASUTOMO, YU-KO. Bactericidal action of ferulic acid with ultraviolet-A light irradiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2018.<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.003>

SIMON, A., AMARO, M.I., HEALY, A.M., CABRAL, L.M., DE SOUSA V.P., 2016. Comparative evaluation of rivastigmine permeation from a transdermal system in the Franz cell using synthetic membranes and pig ear skin with in vivo-in vitro correlation. *Int. J. Pharm.* 512, 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.08.052>

STRAŽIŠAR, M.; ANDRENŠEK, S.; ŠMIDOVNIK, A. Effect of β -cyclodextrin on antioxidant activity of coumaric acids. *Food Chemistry*, v. 110, n. 3, p. 636–642, 2008.

TOBIN, DESMOND J. Introduction to skin aging. *Journal of tissue viability*, v. 26, n. 1, p. 37-46, 2017.<https://doi.org/10.1016/j.jtv.2016.03.002>

ZHANG, LI-WEN et al. A comparison of skin delivery of ferulic acid and its derivatives: evaluation of their efficacy and safety. *International journal of pharmaceutics*, v. 399, n. 1-2, p. 44-51, 2010.<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.07.054>

ZILLICH, O. V., SCHEWEIGGERT-WEISZ, U., HASENKOPF, K., EISNER, P., KERSCHER, M., 2013. Antioxidant activity, lipophilicity and extractability of polyphenols from pig skin - development of analytical methods for skin permeation studies. *Biomed. Chromatogr.* 27, 1444–1451. <https://doi.org/10.1002/bmc.2941>

Tabelas e Figuras

Tabela 1. Composição (% p/p) das formulações cosméticas

Componentes	Concentração (%p/p)	
	Gel	Gel – creme
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	0,7	-
Polyacrylamide (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7;	-	3,5
Methylparaben	0,1	0,1
Dissodium EDTA	0,1	0,1
PropyleneGlycol	3,0	3,0
Ferulic Acid	0,5	0,5
Ethoxydiglycol	0,5	0,5
Distilled water	94,5	91,9
NaOH 10%	qs	-

Tabela 2. Determinação de ordem de liberação do AF através do coeficiente de correlação (r)

Formulação	Membrana sintética (MS)		Membrana biomimética (MB)	
	R	Modelo	R	Modelo
Gel-creme	0.7698	Higuchi	0.9612	Ordem zero
Gel	0.8529	Higuchi	0.939	Higuchi

Tabela 3. Parâmetros cinéticos obtidos a partir da liberação *in vitro* do AF.

Parâmetros	Creme - Membrana biomimética (MB)	Creme - Membrana sintética (MS)	Gel - Membrana biomimética (MB)	Gel - Membrana sintética (MS)
Fluxo - J ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \sqrt{\text{h}}$)	219.2	78.2	357.9	224.4
Lag time (min)	18.2	47.8	3.8	20.0
P (cm^2/h)	0.14	0.05	0.22	0.14

Figura 1.

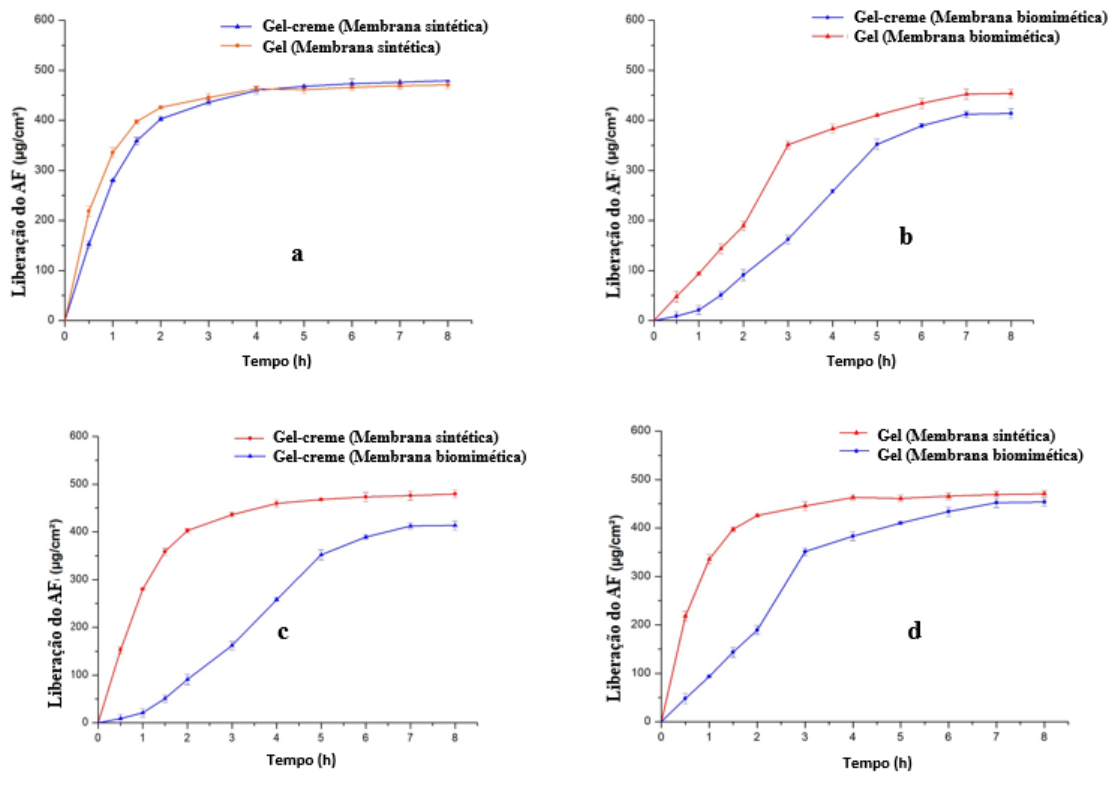


Fig. 1. Perfis *in vitro* de liberação de AF das formulações: (a) gel-creme e gel em membrana sintética (b) gel-creme e gel em membrana biomimética (c) gel-creme em membrana sintética e biomimética (d) gel em membrana sintética e biomimética.