



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**NATÁLIA LIRA MESSIAS**

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE CONSERVANTE NATURAL EM UM PROTETOR  
SOLAR UTILIZANDO EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS DO SEMIÁRIDO  
BRASILEIRO**

**CAMPINA GRANDE**

**2023**

NATÁLIA LIRA MESSIAS

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE CONSERVANTE NATURAL EM UM PROTETOR  
SOLAR UTILIZANDO EXTRATO DE PLANTA MEDICINAL DO SEMIÁRIDO  
BRASILEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Área de concentração:** Desenvolvimento e controle de qualidade de produtos farmacêuticos.

**Orientadora:** Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros

**Coorientador:** Prof. Dr. João Augusto Oshiro Júnior

**CAMPINA GRANDE**

**2023**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

M585a Messias, Natália Lira.

Avaliação da eficácia de conservante natural em um protetor solar utilizando extrato de planta medicinal do semiárido brasileiro [manuscrito] / Natália Lira Messias. - 2023.  
64 p.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2023.

"Orientação : Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, Departamento de Farmácia - CCBS. "

"Coorientação: Prof. Dr. João Augusto Oshiro Júnior , Departamento de Farmácia - CCBS."

1. Cosmético. 2. Extrato de braúna. 3. Schinopsis brasiliensis. 4. Caatinga. I. Título

21. ed. CDD 615.32

NATÁLIA LIRA MESSIAS

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE CONSERVANTE NATURAL EM UM PROTETOR  
SOLAR UTILIZANDO EXTRATO DE PLANTA MEDICINAL DO SEMIÁRIDO  
BRASILEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Área de concentração:** Desenvolvimento e controle de qualidade de produtos farmacêuticos

Aprovada em: 24 de Fevereiro de 2023.

**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dr. João Oshiro Junior (Co-orientador)



Prof.<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Mariana Rillo Sato (Examinador Externo)



Prof. Dr. Rodrigo Molina Martins (Examinador interno)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, minha fortaleza unção diária, por ter me direcionado nos caminhos que Ele havia reservado, permitindo que eu chegasse até aqui. À Nossa Senhora, por sempre interceder por mim à Deus, sendo meu amparo e proteção.

Aos meus familiares, e ao meu pai Marinaldo, por ter sido minha base e minha originalidade.

À minha mãe, Magna Lira (in memoriam), faltam as palavras por tamanha saudade, constante e inconsolável. Tudo que sou hoje eu devo a ti, todos os ensinamentos e valores, obrigada por ter cumprindo de forma tão honrosa e memorável a missão de ser mãe. Te amarei eternamente!

Aos meus avós João Lira (in memoriam), e Maria Grangeiro (in memoriam), à eles minha eterna gratidão, me ensinaram o valor da minha educação e princípios, sendo responsáveis pela pessoa que me tornei, são meus anjos no céu.

Às minhas irmãs, Marília e Priscilla, pelo companheirismo, pela partilha dos dias difíceis, e também felizes que já passamos juntas. Pra sempre seremos um só elo. Obrigada por ter me dado João Bernardo e Victor Hugo como sobrinhos, são meus amores e presentes de Deus.

Ao meu companheiro pra vida, Luan Bastos, te agradeço por me incentivar e acreditar tanto em mim. Te amo muito!

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros por ter me acolhido no Labdem, e ter sido a minha ponte para vida acadêmica.

Ao meu co-orientador Prof<sup>o</sup> Dr. João Oshiro, meu muito obrigada por todos os ensinamentos, incentivo e paciência. Obrigada por sempre me dar apoio na resolução de muitos entraves que surgiram ao longo da pesquisa.

À banca examinadora Prof<sup>a</sup> Dra. Mariana Rillo Sato e Prof<sup>o</sup> Dr. Rodrigo Molina Martins, obrigada pela disponibilidade, as contribuições foram valiosas para enriquecimento do trabalho.

Aos meus amigos e colegas da universidade, pela amizade construída durante a vida acadêmica. Em especial Angélica, Karolayne, Marianna, Fernanda, Kilma, Jéssica, Pablo e Lucas. Gratidão por sempre dividirem comigo os momentos tristes e felizes, amenizando o fardo e alimentando a conquista à nós compartilhada.

Ao Labdem, PPGCPF e USP, agradeço aos grupos pelo apoio no desenvolvimento das análises.

Hoje, nesse dia em que a vida me fez criança de novo,  
neste instante em que esta cena feliz tomou conta de mim,  
uma única palavra eu quero dizer: Oh minha mãe,  
que saudade eu sinto de você!

Pe Fábio de Melo

## RESUMO

*Schinopsis brasiliensis* Engler; *Aspidosperma pyriforme* Mart., *Punica granatum* L. e *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz são plantas presentes na Caatinga com potencial utilização terapêutica e cosmética. O trabalho teve como objetivos obter e caracterizar fito quimicamente os extratos das quatro espécies, sendo quantificados polifenóis totais, flavonoides, taninos condensados e saponinas. Partindo deste resultado, foi escolhido o extrato de braúna folha por apresentar maiores concentrações de flavonoides e polifenóis. Foram desenvolvidas quatro formulações em gel contendo o extrato de *S. brasiliensis*, sendo a primeira contendo extrato (I), a segunda com extrato+conservante (II), a terceira apenas com conservante (III), e a última com ausência de extrato e conservante (IV), a fim de investigar o potencial conservante de *S. brasiliensis*, e seu potencial efeito foto-protetor. Para a pesquisa de patógenos contaminantes seguiu-se a técnica de semeadura em profundidade, segundo o método descrito pela Farmacopeia Brasileira, a fim de determinar o potencial conservante do extrato nebulizado de *S. brasiliensis*. Ao observar o microrganismo *Escherichia coli*, houve redução do Log<sub>10</sub> (UFC/g) de 7,69 para < 1, exercida pelo potencial antimicrobiano do extrato presente na formulação I, comprovando sua ação antimicrobiana. Os ensaios físico- químicos foram realizados por meio das técnicas de determinação da espalhabilidade, centrifugação, estresse térmico, análise térmica e características organolépticas. Não houve alterações em aspectos visuais como separação de fases, e formação de grumos. Nos parâmetros utilizados como pH, os valores permaneceram numa faixa ideal entre 5,5 a 7. A DSC traçou perfis térmicos referentes durante a decomposição térmica das amostras do ciclo *gelo-degelo*, na qual verificou-se picos endotérmicos característicos que podem está relacionados à perda de constituintes voláteis da amostra, como a água e etanol. Para *S. brasiliensis* folha, os resultados da quantificação de flavonoides e polifenóis totais ficaram em evidência, em concentrações de 70,03 e 386,75, respectivamente. O FPS das formulações apresentaram valores satisfatórios, sendo o FPS 16 referente à formulação I que pode ser evidenciado, pois está intimamente relacionado à presença do extrato de braúna nesta formulação, o que explica esse potencial foto-protetor. O extrato de *S. brasiliensis* analisado nas formulações, apresentou um comportamento antimicrobiano, firmando ainda mais seu potencial conservante. Demonstrou-se assim, a viabilidade de utilização de um recurso vegetal da caatinga, como agente conservante em formulação foto-protetora cosmética.

**Palavras-chave:** *Schinopsis brasiliensis*; cosmético; agente conservante; Caatinga.

## ABSTRACT

*Schinopsis brasiliensis* Engler; *Aspidosperma pyrifolium* Mart., *Punica granatum* L. and *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz are plants present in the Caatinga with potential therapeutic and cosmetic use. The objective of this work was to obtain and phytochemically characterize the extracts of the four species, quantifying total polyphenols, flavonoids, condensed tannins and saponins. Based on this result, the brauna leaf extract was chosen because it has higher concentrations of flavonoids and polyphenols. Four gel formulations containing *S. brasiliensis* extract were developed, the first containing extract (I), the second with extract+preservative (II), the third with preservative only (III), and the last without extract and preservative (IV), in order to investigate the preservative potential of *S. brasiliensis*, and its potential photo-protective effect. For the research of contaminating pathogens, the deep sowing technique was followed, according to the method described by the Brazilian Pharmacopoeia, in order to determine the preservative potential of the nebulized extract of *S. brasiliensis*. When observing the microorganism *Escherichia coli*, there was a reduction in Log<sub>10</sub> (CFU/g) from 7.69 to < 1, exerted by the antimicrobial potential of the extract present in formulation I, proving its antimicrobial action. The physical-chemical tests were carried out using techniques to determine spreadability, centrifugation, thermal stress, thermal analysis and organoleptic characteristics. There were no changes in visual aspects such as phase separation and lump formation. In the parameters used, such as pH, the values remained in an ideal range between 5.5 and 7. The DSC traced thermal profiles related to the thermal decomposition of samples from the freeze-thaw cycle, in which characteristic endothermic peaks were found that may be related to the loss of volatile constituents of the sample, such as water and ethanol. For *S. brasiliensis* leaf, the results of the quantification of flavonoids and total polyphenols were in evidence, in concentrations of 70.03 and 386.75, respectively. The SPF of the formulations showed satisfactory values, with SPF 16 referring to formulation I, which can be evidenced, as it is closely related to the presence of brauna extract in this formulation, which explains this photoprotective potential. The extract of *S. brasiliensis* analyzed in the formulations showed antimicrobial behavior, further confirming its preservative potential. Thus, the viability of using a plant resource from the caatinga as a preservative agent in a cosmetic photoprotective formulation was demonstrated.

**Keywords:** *Shinopsis brasiliensis*; cosmetic; protective photo; Caatinga.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler.....	25
<b>Figura 2:</b> Gel base do protetor solar.....	49
<b>Figura 3:</b> Formulações I, II, III e IV.....	49
<b>Figura 4:</b> Curvas DSC das amostras estufa, ambiente, refrigerador e freezer.....	54

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b> Estresse térmico freezer.....	55
<b>Gráfico 2:</b> Estresse térmico estufa.....	55
<b>Gráfico 3:</b> Estresse térmico ambiente.....	55
<b>Gráfico 4:</b> Estresse térmico refrigerador.....	55
<b>Gráfico 5:</b> Espalhabilidade em mm <sup>3</sup> das formulações.....	58

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Especificações dos excipientes farmacêuticos selecionados após o estudo de compatibilidade.....	38
<b>Tabela 2</b> - Caracterização fitoquímica realizada com os extratos das plantas estudadas.....	43
<b>Tabela 3</b> - Concentração inibitória mínima do extrato nebulizado de folhas de <i>S. brasiliensis</i> Engler, nos microrganismos testados.....	45
<b>Tabela 4</b> - Redução Log <sub>10</sub> de UFC/g dos microrganismos presentes nas formulações utilizando o extrato de <i>S. brasiliensis</i> , como conservante, conservante sintético, sem conservante, em função do tempo (T) .....	47
<b>Tabela 5</b> - Avaliação das características organolépticas das formulações FI (carbopol + extrato); FII (carbopol + extrato + metil e propilparabeno); FIII (carbopol + metil e propilparabeno); FIV (carbopol), branco da formulação.....	48
<b>Tabela 6</b> - Dados dos valores de pH da formulação ambiente em concentrações de 0,05, 0,1, 0,2. Sendo, CN = C = controle negativo, CP = controle positivo, SD = desvio padrão, CV% = coeficiente de variação.....	50
<b>Tabela 7</b> - Dados dos valores de pH da formulação estufa em concentrações de 0,05, 0,1, 0,2. Sendo, CN = C = controle negativo, CP = controle positivo, SD = desvio padrão, CV% = coeficiente de variação.....	51
<b>Tabela 8</b> - Dados dos valores de pH da formulação freezer em concentrações de 0,05, 0,1, 0,2. Sendo, CN = C = controle negativo, CP = controle positivo, SD = desvio padrão, CV% = coeficiente de variação.....	51
<b>Tabela 9</b> - Dados dos valores de pH da formulação refrigerador em concentrações de 0,05, 0,1, 0,2. Sendo, CN = C = controle negativo, CP = controle positivo, SD = desvio padrão, CV% = coeficiente de variação.....	52
<b>Tabela 10</b> - Descrição das etapas de degradação térmica das amostras estufa, ambiente, refrigerador e congelador, nos respectivos intervalos de dias, 0, 7, 15, 30, 45 e 60.....	57
<b>Tabela 11</b> - Valores de FPS quantificação in vitro.....	59

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	15
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	15
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	16
<b>3.1 Uso de cosméticos</b> .....	16
<b>3.2 Protetor Solar</b> .....	17
<b>3.3 Conservantes</b> .....	18
<b>3.3.1 Conservantes Sintéticos</b> .....	19
<b>3.3.2 Conservantes Naturais</b> .....	21
<b>3.4 <i>Shinopsis brasiliensis</i> Engler</b> .....	23
<b>3.5 Dados Etnobotânicos das plantas estudadas</b> .....	25
<b>3.5.1 <i>Plantas do semi-árido brasileiro</i></b> .....	27
<b>3.5.2 <i>Técnica por Spray drier</i></b> .....	28
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	30
<b>4.1 Materiais</b> .....	30
<b>4.1.1 Amostras</b> .....	30
<b>4.1.2 <i>Microorganismos – Análise antimicrobiana</i></b> .....	30
<b>4.1.3 <i>Substâncias e meios de cultura</i></b> .....	30
<b>4.1.4 Solventes</b> .....	31
<b>4.1.5 Equipamentos</b> .....	31
<b>4.2 Métodos</b> .....	31
<b>4.2.1 <i>Processamento do material vegetal e produção dos extratos</i></b> .....	31
<b>4.2.2 <i>Coleta, limpeza, secagem, moagem e preparação do extrato vegetal</i></b> .....	32
<b>4.2.3 <i>Técnica de Secagem</i></b> .....	33
<b>4.2.4 <i>Avaliação Microbiológica</i></b> .....	34
<b>4.2.4.1 <i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima</i></b> .....	34
<b>4.2.4.2 <i>Avaliação da ação conservante</i></b> .....	34
<b>4.2.5 <i>Determinação do marcador químico</i></b> .....	35
<b>4.2.5.1 <i>Taninos condensados</i></b> .....	35
<b>4.2.5.2 <i>Polifenóis totais</i></b> .....	35
<b>4.2.5.3 <i>Flavonóides totais</i></b> .....	36
<b>4.2.5.4 <i>Saponinas</i></b> .....	36
<b>4.2.6 <i>Estudo pré-formulação</i></b> .....	37

4.2.6.1 Desenvolvimento do Gel de Carbopol.....	38
<b>4.3 Caracterização das formulações .....</b>	<b>38</b>
4.3.1 Centrifugação.....	38
4.3.2 Determinação do pH.....	39
4.3.3 Estresse Térmico .....	39
4.3.4 Ciclo gelo-degelo .....	39
4.3.5 Espalhabilidade.....	39
4.3.6 Análise Térmica.....	40
4.3.7 Determinação <i>in vitro</i> do fator de proteção solar.....	40
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
5.1 Determinação fitoquímica .....	42
5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima .....	43
5.3 Avaliação Microbiológica das formulações.....	45
5.4 Ensaio físico-químicos e ensaio preliminar de estabilidade física das formulações produzidas .....	47
5.4.1 Características Organolépticas.....	47
5.4.2 Determinação do pH.....	48
5.4.3 Centrifugação.....	49
5.4.4 Estresse Térmico .....	52
5.4.5 Espalhabilidade.....	54
5.5 Análise Térmica.....	55
5.5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial .....	55
5.6 Determinação do Fator de Proteção do Protetor Solar <i>in vitro</i> .....	58
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>61</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os cosméticos são, atualmente, uma realidade presente na rotina das pessoas, seja para embelezamento, prevenção, proteção ou higiene pessoal, em todas as classes sociais, gêneros e idades. Isso torna-se evidente, percebendo o comportamento das pessoas em relação ao uso frequente desses produtos. São produtos não-estéreis de uso tópico, que tem como finalidade primordial a proteção e embelezamento. Neles são encontrados diversos tipos de produtos que promovem o bem-estar e a saúde das pessoas como os fotoprotetores que são capazes de absorver ou refletir a radiação UVA e UVB (BRASIL, 2019).

De acordo com os dados da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), o Brasil é considerado como o quarto maior mercado consumidor do mundo (ABIHPEC, 2020), com um crescimento de 10% ao ano. Isto conta com o indicativo de que as famílias brasileiras, utilizam em média 1,5% de sua renda com produtos cosméticos (SEBRAE, 2019). Outra variável diz respeito às constantes inovações das indústrias, que provoca a competitividade e lança mais opções de produtos ao consumidor (SEBRAE, 2019).

A exposição excessiva ao sol e seus efeitos nocivos são bastante conhecidos, entre eles se destacam as queimaduras solares, foto envelhecimento e especialmente o câncer de pele, o que torna a proteção solar fundamental na prevenção e tratamento das dermatoses fotoinduzidas. Com a finalidade de prevenção, os filtros solares são os produtos de primeira escolha, pois neles são utilizados compostos que bloqueiam a radiação solar na pele, minimizando seus efeitos biológicos nos tecidos. Além dos ingredientes ativos, estes cremes contêm emolientes, emulsificantes, formadores de filme e conservantes, podendo ser orgânicas ou inorgânicas, e os pigmentos são usados para potencializar o bloqueio da luz (HONG H, SAKKIA S, SELVARAJ et al, 2016).

A adição de conservantes é uma prática bastante comum, pois essas substâncias inibem o crescimento de microrganismos, neutralizando a proliferação de espécies reativas de oxigênio e processos de oxidação em cosméticos (SASSEVILLE; ALFALAH; LACROIX, 2015). Os parabenos; ésteres de 4-para-hidroxibenzóico ácido (PHBA) são os conservantes mais populares na área cosmética, apesar de seu uso ser disseminado, ainda existem controvérsias em torno disso, não somente em função do seu potencial alergênico, mas também em razão de uma possível relação com alguns tipos de câncer (BLEDZKA et al. 2014; NOWAK et al. 2018).

Esses compostos, nos últimos 20 anos, vêm sendo motivo de discussões entre cientistas e consumidores, sendo ainda mais complexo com o aumento da popularidade das tendências

pró-ecológicas para um estilo de vida saudável. Desse ponto de vista, há necessidade de uma comprovação dos efeitos negativos dos parabens na saúde humana, a fim de que os produtores de cosméticos introduzam conservantes alternativos no mercado, que sejam mais seguros do que parabens (BLEDZKA et al. 2014; NOWAK et al. 2018).

Sabe-se que a contaminação microbiana dos produtos pode alterar suas propriedades físico-químicas, levar a deterioração e inativação de componentes, comprometendo assim sua estabilidade e eficácia. Devido à busca dos consumidores por cosméticos de longa vida útil, a indústria utiliza diferentes meios para prolongar o período de uso dos cosméticos (SHAHBANDEH, 2019). Por isso, na finalidade de reduzir a contaminação, muitos fabricantes utilizam o sistema de conservantes, que apesar de prevenir a deterioração do produto, devem estar em concentrações baixas, a fim de proteger o usuário de intoxicações (VIEIRA, 2017).

Segundo Oliveira (2018), o consumo de produtos desenvolvidos com bases naturais tem uma grande popularidade na medicina alternativa em países desenvolvidos, e continua ganhando destaque nos países menos desenvolvidos, devido ao seu baixo custo e fácil acesso. Essa prática representa uma das formas farmacêuticas mais antigas na área cosmética, mas já apresentava algumas desvantagens, como difícil aplicação, (atribuída às partículas sólidas na formulação), possíveis problemas microbiológicos, e/ou a necessidade de uma quantidade elevada de material vegetal que, permitisse a concentração suficiente de substância ativa.

O segmento da fitocosmética (do termo latim fito que significa planta) é um vertente da cosmetologia, que estuda as aplicações de substâncias ativas extraídas de materiais vegetais. A atividade antimicrobiana de óleos essenciais, extratos, sementes de diversas plantas e frutos tem sido objetivo de várias pesquisas nos últimos anos. A busca por esses aditivos naturais é importante pelo fato de não promoverem efeitos nocivos à saúde, enquanto que alguns químicos ou sintéticos podem oferecer, como toxicidade, reações alérgicas ou o risco de sobre-exposição diária (CAROCHO et al., 2015). O potencial de aplicação desses compostos naturais está cada vez mais em destaque, devido à alta procura dos consumidores por produtos extintos de conservantes sintéticos (MARTIN, 2011).

Dessa forma, é necessário fazer referência, nas formulações cosméticas, sobre os tipos e modo de obtenção dos respectivos extratos, assim como os aspectos gerais das preparações de fórmulas galênicas (JESUS et al., 2020). Assim, o presente estudo buscou investigar os compostos fitoquímicos das plantas do semi-árido brasileiro que são: *Schinopsis brasiliensis* Engler, casca e folha; *Aspidosperma pyrifolium* Mart., casca; *Punica granatum* L., casca do fruto; e casca *Poincianella pyramidalys* (Tul.) L. P. Queiroz, e baseado nos resultados obtidos, a planta que apresentou maior concentração de compostos fenólicos foi escolhida para dá

seguimento com o estudo, associando o seu extrato em preparação cosmética a fim de avaliar seu potencial conservante em um protetor solar.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Caracterizar fito quimicamente os extratos das plantas de *Schinopsis brasiliensis* Engler, casca e folha; *Aspidosperma pyriforme* Mart., casca; *Punica granatum* L., casca do fruto; e casca *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz, para selecionar o que apresentou maior quantidade de compostos fenólicos, a fim de analisá-lo microbiologicamente como um potencial agente conservante em formulações fito-cosméticas.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) obter o extrato nebulizado da planta de *Shinopsis brasiliensis* casca e folha;
- b) quantificar o teor de flavonoides totais, taninos condensados, polifenóis e saponinas dos extratos das plantas citadas acima;
- c) produzir quatro formulações à base de gel de carbopol, associadas ao referente extrato;
- c) determinar o potencial microbiológico do extrato de *S. brasiliensis* folha;
- d) investigar o perfil de estabilidade das formulações por meio de ensaios físico-químicos sob condições de ciclo gelo-degelo;
- e) traçar perfis térmicos das formulações;
- d) determinar o fator de proteção solar das formulações.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Uso de cosméticos

Durante todos os períodos da história algum tipo de substância natural foi utilizado para proteção corporal. Dessa forma, indivíduos sempre adaptaram seus costumes a preparações feitas por substâncias naturais ou sintéticas, com a finalidade de se cuidar esteticamente, tornando os cuidados como uma cultura frequente desde a antiguidade (OLIVEIRA, DE CAMILLO e CHAVES, 2018).

Os cuidados com o corpo, seja para autoestima, prevenção do envelhecimento, higiene pessoal ou proteção da pele, é uma prática frequente entre homens e mulheres desde o Egito Antigo, por meio das pinturas nos olhos e na pele, em Roma e no Império Otomano já eram utilizados óleos perfumados em banhos, por exemplo (COSTA; SANTOS, 2017). No século XX, a indústria de cosméticos permaneceu no período da Crise de 1929 e na Segunda Guerra Mundial, indicando a sua importância no cotidiano das pessoas, ganhando força principalmente com o público feminino (RAMLI, 2015).

No Brasil, o costume de utilizar produtos tornou-se frequente com a chegada da família Real Portuguesa em 1808. E desde então, o índice de consumo do Brasil segue crescente, e se destaca como um dos maiores consumidores de produtos de beleza do mundo. Dados da empresa de consultoria em negócios e pesquisa do mercado, a *Goldstein Market*, confirmam sua 4ª posição entre todos os países, estima assim que até 2030 o crescimento anual do setor será de 4,76%. Além disso, é o segundo maior consumidor de protetor solar, e a cada ano se aproxima mais dos Estados Unidos, China e Japão, que são os atuais líderes mundiais do setor (RECKZIEGEL, 2017).

A palavra cosmética originou-se do grego *kosméticos*, referente à adorno, prática ou habilidade de adornar (RIBEIRO, 2010). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define cosméticos como:

[...] preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e/ou corrigir odores corporais e/ou protegê-los ou mantê-los em bom estado (BRASIL, 2015).

Segundo a Anvisa, tal definição pode ser dividida em produtos de grau 1 e grau 2. Os de grau 1 são de higiene pessoal, cosméticos e perfumes caracterizados por suas propriedades básicas, de modo que sua validação e informações detalhadas quanto ao uso, não são

imediatamente necessárias. Produtos de Grau 2 são de higiene pessoal, cosméticos e perfumes que requerem indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e eficácia (ANVISA, 2015).

A indústria cosmética vem passando por importante transformação no que diz respeito ao desenvolvimento de uma produção ecologicamente correta. Essa mudança compreende associar o consumo sustentável aos cuidados com a pele, utilizando para tais fins o cosmético natural. Esse tipo de produto deve constituir pelo menos um componente oriundo de substância natural, extraído diretamente de uma planta. Entretanto, ainda não existe uma definição legal do teor mínimo de ingrediente derivado de substância natural para caracterizar o cosmético como natural (HERMAN et al., 2013).

### **3.2 Protetor Solar**

A pele é o órgão mais extenso do corpo, cuja função principal é atuar como barreira contra agentes agressores do ambiente. Está dividida em três camadas distintas: a epiderme, a derme e a hipoderme, esta última é composta essencialmente por gordura subcutânea. Este órgão é o que está mais exposto à radiação UV ambiental e às sequelas que resultam desta exposição como, o eritema e a queimadura solar, o envelhecimento cutâneo, a fotossensibilidade e a carcinogênese. Na escala eletromagnética, a radiação UV, pode ser dividida em UV-C (100-280 nm), UV-B (280-320 nm) e UV-A (320-400 nm) (ARMSTRONG; CUST, 2017).

A radiação ultravioleta (UV) é constituída em torno de 90% de UV-A, a qual é capaz de penetrar até a derme, podendo causar necrose das células endoteliais, danos aos vasos de pequeno calibre da região da pele, modificações estruturais ao DNA além de estar relacionada a 67% do melanoma maligno. A radiação UV-B corresponde a 4- 5% da luz ultravioleta, e age principalmente, nas camadas das células basais da pele sendo ativamente genotóxica, podendo propiciar o carcinoma da pele. Os efeitos danosos causados pela radiação ultravioleta são muitas vezes irreversíveis, por isso, é necessária a utilização diária de preparações tópicas constituídas de substâncias que protegem contra os efeitos da radiação (POLJSK; DAHMANE, 2012).

Na sociedade atual, a aparência física jovem e saudável vem se tornando prioridade, motivando a indústria cosmética a desenvolver produtos inovadores com a finalidade de retardar ou diminuir os efeitos do envelhecimento. A primeira vez que foi usado um creme fotoprotetor, remonta à década de 1920, uma emulsão que continha salicilatos, mais propriamente, salicilato de benzilo e cinamato de benzilo. Nas décadas seguintes, o ingrediente ativo passou a ser o petrolato, mais conhecido por vaselina, e nos anos 40 foi descoberta a atividade foto-

protetora do ácido para-aminobenzoico (PABA), mas devido ao alto risco de causar dermatite de contato alérgica, hoje não é mais usado (SOUZA, 2015).

Os protetores solares são preparações dermocosméticas, que possuem formas de apresentação diversas. Podem ser encontradas na forma de loções hidroalcoólicas, géis, emulsões em água ou óleo, aerossóis (BALOGH, et. al., 2011). Os filtros solares agem refletindo ou refratando a radiação ultravioleta, protegendo a pele da exposição direta da luz solar, reduzindo a quantidade de radiação UV a ser absorvida pela pele. Seu uso tem como objetivo evitar danos teciduais evidenciados clinicamente através dos eritemas e edemas resultantes de queimaduras, que corroboram com o aumento da incidência de carcinoma de células da camada basal e espinhosa (VIOLANTE et al., 2009).

De acordo com a agência regulatória Anvisa, (2013), o potencial protetor é determinado pelo Fator de Proteção Solar (FPS), que é definida como a razão entre o tempo de exposição à radiação ultravioleta necessário para produzir dose mínima de eritema (DME) na pele protegida, e o tempo de aparecimento do mesmo eritema na pele desprotegida.

Em meio à diversidade de protetores solares, propostas inovadoras no desenvolvimento de cosméticos com o emprego de matérias-primas vegetais com atividade fotoprotetora tem se destacado, pois os extratos vegetais atuam isolados ou em conjunto com os filtros químicos, de forma semelhante aos ativos convencionais, devido à presença dos polifenóis. Eles são capazes de reduzir ou eliminar os efeitos causados exercidos pelos raios ultravioletas (NASCIMENTO et al., 2009; CEFALI et al., 2016; CONSTANTINI et al., 2014). Isso se refere à presença de anéis aromáticos em sua estrutura molecular, que ao absorverem a radiação UV geram uma “excitação” em sua molécula possibilitando a absorção dos raios ultravioletas (MUNHOZ et al., 2012).

### **3.3 Conservantes**

O risco da contaminação microbiológica é uma preocupação recorrente em várias indústrias, especificamente, na indústria farmacêutica e na cosmética. Indústrias de produtos farmacêuticos devem considerar que, ao lançarem os seus produtos no mercado, estes podem ser suscetíveis a contaminações, quando expostos à condições de armazenamento e utilização não adequados. Cargas microbianas elevadas alteraram a estabilidade do produto, e promovem mudanças físicas e químicas que acarretam alterações, como alteração da estabilidade, alteração do pH e das características organolépticas (cor, odor, sabor e textura), e inativação das substâncias ativas e excipientes da formulação (HERMAN A. 2018).

Usualmente os conservantes antimicrobianos são substâncias, que em quantidade excessiva, podem provocar efeitos nocivos, dessa forma devem ser adicionados a produtos com a finalidade de conservação, por isso devem ser adicionados em pequena quantidade. A garantia da qualidade e o controle de fabricação previstos nas boas práticas devem garantir que o produto cumpra as especificações determinadas, isto é, que atendam além de outros parâmetros, aos limites aceitáveis para microrganismos (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

### **3.3.1 Conservantes Sintéticos**

Com finalidade ímpar, os conservantes são substâncias empregadas para preservar a originalidade do produto farmacêutico durante o período de prateleira, bem como na fase de sua utilização pelo consumidor, além de promover a proteção do usuário contra uma infecção eventual (SANTOS, 2007).

Apesar de existir uma ampla variedade de conservantes aprovados, a área cosmética tem sido predominada pelos parabenos, formaldeídos, liberadores de formaldeído e isotiazolinonas. Dentre estes, os parabenos são majoritários, sendo encontrados em diversos tipos de produtos e em diferentes níveis de concentração (DEZA G, GIMÉNEZ-ARNAU AM, 2017).

Os parabenos são ésteres do ácido p-hidroxibenzoico, antimicrobiano, que são obtidos através da reação de esterificação do ácido parahidroxibenzóico com álcool em meio ácido. Os parabenos são estáveis entre pH 4 e 8. Em meio muito ácido estes ésteres sofrem hidrólise formando ácido parahidroxibenzóico, seu composto de degradação, e o álcool correspondente. O ácido para-hidroxibenzóico formado apresenta reduzida atividade antimicrobiana (SONI et al, 2005). O pH mais elevado com alguma atividade, é um pH de 8. Por isto, os parabenos são raramente usados em pH >6 e <4. (COSMETICOS, 2014).

A escolha do agente conservante mais conveniente para um produto requer uma avaliação de múltiplos fatores, como espectro de ação necessário, grau de toxicidade, compatibilidade a outros componentes da formulação, compatibilidade fisiológica e custos. As concentrações permitidas para conservantes e misturas de conservantes baseiam-se na categoria do produto, suas restrições e modo de utilização. Entretanto, as normas não são totalmente harmonizadas, podendo certos conservantes ter o uso permitido em determinados países e proibido em outros (HALLA N, FERNANDES IP, HELENO SA, COSTA P. et al., 2018).

Conforme decretado pela Resolução RDC N° 29, DE 1º DE JUNHO DE 2012 da ANVISA, há uma concentração máxima autorizada para a adição de conservantes em produtos

de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, que variam conforme o tipo de substância conservante e o tipo de produto ao qual será adicionado (ANVISA, 2012).

A quantidade de conservante contida em uma formulação deverá ser a mínima suficiente para a proteção do produto sem prejudicar o paciente ou consumidor. No anexo V do regulamento 1223/2009 da União Europeia, encontram-se listados os conservantes aprovados para uso, assim como as suas concentrações máximas permitidas, restrições e condições de utilização. Na regulamentação da União Europeia e do Brasil consta que é permitido o uso de no máximo 0,4% de cada parabeno e um máximo de 0,8% de parabeno total, no produto cosmético (COSMETICOS, 2014), sendo válido também para o metilparabeno. A permeação cutânea dos parabenos e a capacidade de atingir a circulação sistêmica dependem do veículo de solubilização e da própria composição da formulação, além de fatores relacionados ao uso, como reaplicação e oclusão do produto na pele (JUNGMAN E, LAUGEL C, BAILLET-GUFFRO YAILLET, 2014).

As principais vantagens atribuídas aos parabenos são o amplo espectro de ação antibacteriana e antifúngica e os baixos custos. Desse modo, estes conservantes são convencionais na composição de diversos tipos produtos, como medicamentos, cosméticos e alimentos. Outras vantagens incluem pH próximo à neutralidade, estabilidade em temperaturas elevadas e não interferência na cor, odor e viscosidade de formulações (GENUIS SJ, DIRKHOLZ D, CURTIS L, et al., 2013).

Os agentes conservantes são substâncias de baixo peso molecular e alto potencial para causar reações de intolerância durante o uso. Em cosméticos, os conservantes representam o maior grupo de substâncias alergênicas depois das fragrâncias. Entretanto, a duração, a frequência e a via de exposição são fatores a serem considerados. Os casos envolvendo parabenos são relativamente raros, em vista do uso extensivo destes conservantes pela população. Contudo, estudos sugerem que os parabenos são disruptores endócrinos e possuem atividade estrogênica relacionada ao desenvolvimento de câncer de mama humana (HALLAN, FERNANDES IP, HELENO SA, COSTA P., 2018).

Além disso, um ponto negativo relacionado ao uso desregrado de parabenos, está a questão ambiental. Apesar de serem biodegradáveis, os parabenos podem ser encontrados em águas superficiais e outros sedimentos, devido ao elevado consumo de produtos contendo parabenos pela população. A presença contínua no meio ambiente e a formação de derivados mais resistentes sugere um debate a respeito da toxicidade a organismos aquáticos e dos riscos potenciais à saúde humana (HALLAN, FERNANDES IP, HELENO SA, COSTA P., 2018).

Um conservante adequado deve atender determinadas propriedades e/ou características:

1. Ser eficaz em baixas concentrações contra um amplo espectro de microrganismos;
2. Ser solúvel na formulação na concentração necessária;
3. Não ser tóxico nem sensível na concentração utilizada;
4. Ser compatível com os restantes componentes da formulação e materiais de embalagem;
5. Não ter nenhuma influência na cor, odor ou outras propriedades físicas da formulação;
6. Ser estável ao longo de amplas faixas de pH e temperatura;
7. Ter um custo relativamente baixo;
8. Estar de acordo com a legislação.

A escolha de um conservante torna-se difícil, de modo que atenda à todos os requisitos enumerados anteriormente. Desse modo, na produção de algumas formulações, a utilização de apenas um tipo de conservante pode não ser suficientemente eficaz na proteção do produto. Em situações como essas, recomenda-se a combinação de conservantes que proporcione o aumento do espectro antimicrobiano; diminui a quantidade necessária de conservantes individuais; possibilita uma ação sinérgica e ainda previne o desenvolvimento de microrganismos resistentes ao produto (R. C. ROWE, P. J. SHESKEY e M. E. QUINN, 2009).

Neste caso, são utilizadas combinações de conservantes antimicrobianos pertencentes aos mesmos agrupamentos químicos. Um exemplo comum na indústria farmacêutica é utilização de dois parabenos em simultâneo, o metilparabeno e o propilparabeno. Ao contrário do que acontece com o sinergismo, em que os conservantes atuam de diferentes formas sobre os microrganismos (R. C. ROWE, P. J. SHESKEY e M. E. QUINN, 2009).

### ***3.3.2 Conservantes Naturais***

Uma substância conservante ideal é aquela que deve promover efeitos primários e seletivos à célula microbiana. Para o desenvolvimento de produtos cada vez mais seguros, as pesquisas de novos agentes conservantes e o aperfeiçoamento de sistemas convencionais devem ser incentivados. Assim, o emprego de conservantes menos tóxicos ou a associação de substâncias que potencializam a atividade antimicrobiana podem reduzir a concentração de conservantes na formulação e melhorar o perfil toxicológico (NARAYANAN M, SEKAR P, PASUPATHI M., et al, 2017).

Nesse ponto de vista, a indústria cosmética tornou-se uma área altamente competitiva, para a qual os fatores de qualidade, eficácia e segurança dos seus produtos seriam primordiais. Porém, na atualidade, o termo “natural” volta a ser discutido, e as mais recentes inovações tendem a incluir ingredientes naturais no desenvolvimento de cosméticos (RYBOWSKA, 2014).

Nesse contexto, as empresas que se dedicam à produção de extratos e demais fito derivados, tem sido cada vez mais solicitadas no fornecimento de seus produtos. Os processos tecnológicos atualmente empregados nessa produção têm promovido derivados das plantas medicinais que vão desde os extratos integrais, as tinturas, os óleos essenciais, as gomas, as mucilagens, os óleos e gorduras vegetais, até os princípios ativos isolados e purificados (KIELTYKA; VALENTIN; LUBI, 2017)

O uso de compostos naturais é um dos grandes desafios que a indústria cosmética enfrenta desde os anos 90, isto porquê algumas exigências devem ser seguidas, tais como: o uso de agricultura sustentável/orgânica; o uso ideal dos recursos naturais; não conter organismos geneticamente modificados (OGM); entre outros. Outrossim é o fato de que os biocosméticos não possuem conservantes sintéticos em sua composição, isso torna o controle microbiano desafiador, por tratar-se de um meio rico em substratos que propiciam o crescimento de microrganismos, sendo um problema de maior relevância para produção deste tipo de produto (SEBRAE, 2017).

Diante do potencial de inibição microbiana de substâncias naturais bioativas, as indústrias de pesquisa e desenvolvimento estão investindo em estudos visando encontrar opções conservantes mais naturais e minimizar o uso de substâncias sintéticas, como também das chances de irritações cutânea. Desse modo, despertou-se o interesse das indústrias explorarem o potencial antimicrobiano de substâncias naturais com potencial bioativo como extratos vegetais e óleos essenciais (HERMAN et al., 2013; NOSTRO et al., 2004) , pois os extratos vegetais e óleos essenciais mesmo não sendo conservantes, exibem atividade antimicrobiana.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2019), os testes para avaliar a eficácia de sistemas conservantes em formulações farmacêuticas e cosméticas incluem microrganismos patogênicos, que podem contaminar produtos, que são: *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 , *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Os microrganismos patogênicos mais encontrados em cosméticos são *S. aureus* e *P. aeruginosa*, devido à habilidade que possuem para proliferar em diversos tipos de substratos. Além destes, fungos dos gêneros *Aspergillus* sp e *Candida* sp são muito frequentes. Em



determinadas ocasiões e quando não se conhece as características do conservante, é realizado um teste de determinação da concentração inibitória mínima (CIM). A CIM é a concentração mínima de conservante necessário para inibir o crescimento de um microrganismo específico (UNITED STATES PHARMACOPEIA 37th ed, 2017).

A ANVISA estabelece os parâmetros para controle microbiológico de cosméticos, produtos de higiene pessoal e perfumes e os subdivide em dois tipos:

- 1) Produtos infantis, para área dos olhos e que entram em contato com mucosas;
- 2) Demais produtos susceptíveis à contaminação.

Os critérios de aceitabilidade para qualidade microbiológica para os dois tipos de produtos são:

- i) Ausência de *Pseudomonas aeruginosa* em 1 g ou 1 mL de produto;
- ii) Ausência de *Staphylococcus aureus* em 1 g ou 1 mL de produto;
- iii) Ausência de coliformes totais e fecais em 1 g ou 1 mL de produto; e
- iv) Ausência de clostrídios sulfito-redutores em 1 g para talcos.

Produtos farmacêuticos não estéreis de uso tópico e oral são assim nomeados por não terem obrigatoriedade de serem isentos de microrganismos, ou seja, não necessitam ser estéreis. Em casos de novos produtos ou para determinação do efeito antibacteriano e/ou antifúngico de determinadas substâncias, como é o caso de novos conservantes, é requerido um teste de determinação da concentração mínima inibitória (CIM). A CIM é a concentração de conservante mínima pela qual o agente é capaz de inibir o crescimento de um microrganismo sob determinadas condições estabelecidas. Os métodos mais comuns são os métodos das diluições sucessivas e o método de difusão em agar. Dessa forma, substâncias conservantes devem submeter-se ao controle de contaminação microbiana, seguindo os limites aceitáveis da presença de microrganismos que não acarretem riscos à saúde dos usuários (MINISTÉRIO DA SAÚDE-MS, 2019).

### **3.4 *Shinopsis brasiliensis* Engler**

Pertencente à família Anacardiaceae, a *Schinopsis brasilliensis* Engl é uma espécie endêmica do Brasil, valiosa espécie madeireira das províncias biogeográficas do Cerrado e do Chaco na América do Sul tropical (LOPÉZ et al, 2016). No Brasil é uma árvore nativa da Caatinga e Mata Atlântica encontrada nas regiões semi-áridas (FERNANDES et al., 2015) de quase todos os estados brasileiros, como por exemplo: Bahia, Ceará, Rio Grande do Norte,

Sergipe, Tocantins, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás e Paraíba (JOVITO, 2016).

A *Schinopsis brasiliensis* Engl., popularmente conhecida como baraúna, é uma das árvores de maior porte, cerca de 10 a 12 metros de altura por 60 cm de diâmetro e com ramos providos de espinhos resistentes, encontrada em áreas de caatinga (CARDOSO et al., 2015), e pode ser encontrada por meio de nomes populares: baraúna-do-sertão, braúna-parda, coração-de-negro, maria preta da mata, quebracho ou ubirarana (KILL; LIMA, 2011).

É uma planta xerófita, heliófita, totalmente decídua durante o período seco e floresce em épocas variáveis do ano. Suas folhas são de coloração verde escura no topo e mais claras na parte inferior. Apresenta flores brancas e pequenas com pouco cheiro. Seus frutos são vagens em formato de foices, arredondadas e cobertas de pelos finos com apenas uma semente (GONZAGA et al., 2003; JOVITO, 2016; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2008).

Avaliações biológicas usando extratos de folhas e cascas de *S. brasiliensis* demonstraram atividades antioxidantes e antimicrobianas (FORMIGA et. al, 2015; SARAIVA et. al, 2011), anticarcinogênica (NARAYANAN et al, 1999) e descritas para o ácido elágico e a atividade anti-inflamatória, antimutagênica e antitumoral presentes no ácido gálico e nas catequinas (figura 4) (AQUINO et al, 2016). Além disso, demonstrou atividade antioxidante a partir da casca de *S. brasiliensis* (LIMA-SARAIVA et al., 2017).

**Figura 1.** *Schinopsis brasiliensis* Engler.



**Fonte:** Dantas (2021)

A braúna é composta por uma diversidade de substâncias fitoquímicas, como: taninos, flavonoides, fenóis, antocianinas, xantonas, leucocianinas, saponinas, alcaloides, chalconas,

auronas, flavonóis, triterpenos, ácido gálico, galato de metila, ácido elágico, ácido palmítico, ácido linoleico, ácido oleico, b-sitosterol, linoleato d metila, hexadecanoato de metila (CHAVES, 2011, FERNANDES et al. 2015; SANTOS et al. 2017).

Na literatura são descritos alguns compostos químicos que foram isolados da casca de *S. brasiliensis*, que são os seguintes, alquil, fenol, metil 6-hidroxi-2-eicosanil-4-metoxibenzoato e o esteróide incomum  $5\alpha, 8\alpha$ -epidioxi ergosta-6,22-dien 3- $\beta$ -ol. Das folhas foram isolados biflavonóides (2R\* 3R\*, 200R\*, 300R\*)-7-hidroxi-40-metoxi-flavanona-(3 $\rightarrow$ 300)-3000, 700-dihidroxi-4000-metoxi-flavanona e 4,20, 40-trihidroxichalcona (3 $\rightarrow$ O $\rightarrow$ 400)-20.000, 4.000-dihidroxicalco (CARDOSO, 2015). Essa gama de substâncias fenólicas demonstra o potencial biológico dessa planta, uma vez que são atribuídas atividades farmacológicas a muitos desses compostos químicos citados.

### **3.5 Dados Etnobotânicos das plantas estudadas**

No campo da etnobotânica, pesquisas têm fornecido diversas informações sobre a forma de apropriação e manejo dos recursos vegetais por populações locais (Albuquerque, 2005). Diante disso, foi realizado um levantamento de dados na literatura sobre quais partes das plantas apresentou melhores resultados para fins terapêuticos. A partir disso, os resultados da pesquisa apresentados na tabela abaixo serviram como base para o estudo fito-químico das mesmas.

**Quadro 1.** Utilização etnofarmacológica no Brasil e no mundo das plantas utilizada neste estudo.

Nome científico	Nome Popular	Familia	Parte usada	Exsicata	Tipo extrato testado	Uso tradicional	Referência
<i>Aspidosperma pyrifolium</i> Mart	Pereiro	Apocynaceae	Casca	Herbário Jayme Coelho de Moraes, UFPB, sob o número 20104.	Evaporado a vácuo	Antimicrobiana, anti-inflamatória e analgésica citotóxica, hipotensora, Tripanosomicida	Ceravolo et al., (2018); Silva et al. (2018); Araújo et al., (2018).
<i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) LP Queiroz	Catingueira	Fabaceae	Casca	Herbário do herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da UFCG, sob o número CSTR5036.	Evaporado a vácuo	Antimicrobiana, antifúngico.	Chaves et al., 2016; Chaves et al, 2019; Pereira et al., 2014.
<i>Punica granatum</i> L.	Romã		Casca do fruto	Herbarium Arruda Câmara da UFPB, sob o número ACAM-000072	Evaporado a vácuo	Antimicrobiana, antifúngico, anti-inflamatória, antidiabético, anti-lipênico	M.S. Mahmooda, et al, 2021; Arun & Singh, 2012; Conidi et al., 2017.
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler	Braúna	Anacardiaceae	Cascas	Herbário Jayme Coelho de Moraes, UFPB, sob o número EAN- 14049.	Nebulizado	Antimicrobiana, antifúngica, antioxidante.	Santos, et al, 2017; Luz et al, 2018.
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engler			Folhas	Herbário Jayme Coelho de Moraes, UFPB, sob o número EAN- 14049.	Nebulizado e evaporado a vácuo.		Silva et al., 2012.

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

### 3.5.1 Plantas do semi-árido brasileiro

*Aspidosperma pyrifolium* Mart. é uma espécie presente na caatinga, conhecida popularmente como Pereiro, Pau-pereiro, Pereira-branca, Pereiro-branco, Pereiro-de-saia, Pereiro-preto, Pereiro-vermelho, Peroba-paulista, Peroba-rosa e Trevo. Essa espécie é economicamente importante por ter multiplicidade de usos, principalmente na utilização como planta ornamental (VIANA 2015; LINS, 2016).

É utilizada na medicina popular, devido as suas propriedades anti-inflamatórias, principalmente no trato genito-urinário, algumas dermatites, dor de estômago, cólicas, coceiras e diarreias. Possui ainda, propriedades sedativas, uma vez que, os alcaloides indólicos agem, provavelmente, sobre os receptores opiáceos, GABAérgicos, muscarínicos, serotoninérgicos e dopaminérgicos (VIANA 2015; LINS, 2016). Na medicina popular, infusões das cascas do gênero *Aspidosperma pyrifolium*, são comumente utilizadas no tratamento de várias enfermidades, como leishmaniose, febre, tratamento do câncer e reumatismo (MONTAIA, 2013).

*Poincianella pyramidalis* é uma árvore de pequeno porte, atingindo ca. de 10m de altura, caule com tronco de coloração acinzentada, ramos inermes, folhas compostas bipinadas; flores amarelas com uma pétala central que exibe pontuações avermelhadas; o fruto é um legume seco deiscente, glabro, de coloração marrom escura, polispérmico, com sementes ovaladas, comprimidas lateralmente (SILVA; MATOS, 1998; MAIA, 2004; MAIA- SILVA et al., 2012).

A romãzeira, *Punica Granatum* L. (*P. granatum*), é um arbusto lenhoso, ramificado, da família *Punicaceae*, tem sido cultivada há muito tempo por toda a região Mediterrânea da Ásia, América, África e Europa. Apresenta folhas pequenas, rijas, brilhantes e membranáceas, flores vermelho-alaranjada dispostas nas extremidades dos ramos, originando frutos esféricos, com muitas sementes em camadas as quais se acham envolvidas em arilo polposo (LORENZI & SOUZA, 2001; FERREIRA, 2004).

Atualmente muitos trabalhos científicos são feitos estudando as propriedades medicinais da romãzeira. No entanto, há ainda poucos estudos etnobotânicos, de farmacognosia e toxicológicos suficientes para elucidar os mecanismos de ação e efeitos dos constituintes químicos derivados da romã. Sabe-se que a *Punica granatum* possui propriedades terapêuticas amplas como antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, quimioprotetoras entre outras, já são aplicadas no tratamento e medidas preventivas do câncer, doenças cardiovasculares, condições bucais, diabetes, artrite e obesidade (BHANDARY et al., 2012).

A romã é usada pela população em tratamentos de um grande número de doenças infecciosas e inflamatórias, nas quais se podem citar: lesões e abscessos de pele e mucosas, amigdalites, faringites, estomatites, gengivite, glossite, afecções febris, diarreias de origem bacteriana e parasitária, cólicas, hemorroidas, infecções de vias urinárias e genitais, viroses em geral, infecções por fungos, conjuntivites e doenças respiratórias, como bronquites (WERKMAN et al., 2008).

### ***3.5.2 Técnica por Spray drier***

O método de secagem das plantas medicinais pode ser descrito como um processo simultâneo de transferência de calor do ar de secagem para a planta úmida, e massa de água da planta para o ar de secagem. Essa troca tem função de promover, através da redução do teor de água, a estabilização do metabolismo da planta, redução da atividade microbiana e a inativação da atividade enzimática que podem degradar os princípios ativos existentes, contribuindo para o armazenamento e a disponibilização do material vegetal durante o ano (GONELI, 2014).

A prática adequada da técnica de secagem e a compreensão dos fatores que podem comprometer o processo, é essencial para que a biomassa produzida pela planta e suas propriedades terapêuticas possam ser preservadas e utilizadas de forma integral e efetiva (MARTINS et al., 2015).

O princípio da extração é liberar os compostos da estrutura da matriz vegetal a fim de se obter extratos com elevadas concentrações dos compostos presentes em pequenas quantidades na matriz sólida natural dos vegetais. Os extratos de plantas são obtidos a partir de extração por solvente como água, metanol, etanol, clorofórmio, diclorometano, acetona, hexano e outros. Assim, a escolha da técnica de extração adequada e do solvente é um dos procedimentos mais importantes para melhorar o rendimento da extração (CHEN et al., 2018).

A composição e concentração de componentes são variáveis que dependem de muitos fatores como período de colheita, armazenamento, condições de cultura, a metodologia de extração, a natureza da matriz vegetal, o tamanho das partículas, o solvente e a concentração utilizada, o tempo e a temperatura de extração. Os extratos aquosos e alcoólicos possuem constituintes diferentes de acordo com a solubilidade de cada solvente utilizado no preparo do extrato. No estudo de Ghasempour et al. (2016) o extrato etanólico apresentou resultados antimicrobianos mais satisfatórios em relação ao extrato aquoso. Isso se deve pela quantidade de fenólicos no extrato etanólico, em relação ao extrato aquoso.

Entre os métodos de extração, o emprego de solventes orgânicos é bastante comum, podendo ser combinado com agitação e/ou aquecimento. Porém, há necessidade de um controle rigoroso no uso desses solventes, alguns desses fatores são a polaridade, o tempo e a temperatura de extração, de modo que impeça a contaminação do meio ou destruição dos compostos do extrato. (ROSTAGNO et al., 2003; CASTRO et al., 2011; ZOU et al., 2013; VIERA, 2016).

O método de secagem por atomização denominado *spray drying*, foi utilizado por sua habilidade de alterar os extratos líquidos em pós com características importantes (teor de umidade, tamanho, morfologia, densidade e estabilidade química) que foram desenvolvidos sequencialmente em três etapas: atomização, desidratação e coleta de pó. Os produtos particulados secos foram recuperados por pulverização do líquido em uma corrente de gás de secagem (CORTÉS-ROJAS; SOUZA; OLIVEIRA, 2015; CHAUL et al., 2017).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

#### 4.1.1 Amostras

- Extrato da casca e folha de *Shinopsis brasiliensis*;
- Extrato da casca de *Aspidosperma pyrifolium* Mart.,
- Extrato da casca e fruto de *Punica granatum* L.,
- Extrato da casca de *Poincianella pyramidalys* (Tul.) L. P. Queiroz.

#### 4.1.2 Microrganismos – Análise antimicrobiana

- *Escherichia coli* (ATCC);
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC);
- *Staphylococcus aureus* (ATCC);
- *Aspergillus niger* (ATCC);
- *Candida albicans* (ATCC).

#### 4.1.3 Substâncias e meios de cultura

- Aerosil 200®
- Vanilina 4% (p/v)
- Folin-Ciocalteu
- Catequina
- Quercetina
- Gentamicina
- Cefalexina
- Fluconazol
- Ágar nutriente
- Caldo triptona
- Carbopol 940 (%)
- Propilenoglicol (%)
- Trietanolamina (%)
- Octilmetoxinamato (%)
- Oxalato de cálcio monohidratado



#### **4.1.4 Solventes**

- Etanol 96%
- Água destilada
- Ácido acético a 0,1%
- Metanol
- Ácido gálico
- Ácido clorídrico
- Dimetilsulfóxido de dimetilo 10%
- Cloreto de sódio 20%
- Cloreto de alumínio
- Álcool isopropílico

#### **4.1.5 Equipamentos**

- Estufa de circulação de ar
- Moinho de facas com saída de 10 mesh
- Rotoevaporador
- Ultraturrax - Lavadora ultrassônica – UNIQUE modelo Ultrasonic Cleaner
- Aparelho Spray Drier LM SD 5.0 (Labmaq<sup>®</sup>, Brasil)
- Espectrofotômetro Shimadzu UVmini-1240
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) (Shimatzu)
- Centrífuga
- Viscosímetro rotativo do tipo Brookfield
- Analisador térmico simultâneo (Shimadzu)<sup>®</sup>

## **4.2 Métodos**

### **4.2.1 Processamento do material vegetal e produção dos extratos**

Foi realizada a coleta da planta do semiárido Brasileiro de *Schinopsis brasiliensis* Engler, casca e folha na região de Campina Grande, Paraíba, Brasil (7°13'50"S, 35°52'52"W) registradas no Sistema Nacional de Patrimônio Genético de Associados Conhecimentos Tradicionais (SISGEN) do Brasil sob número A31EB7A. A identificação da espécie vegetal e depósito da exsicata foi realizado no herbário Professor Jayme Coelho de Moraes localizado na Universidade Federal da Paraíba – EAN – 14049, e em seguida o material foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 40 °C, até obter peso constante e pulverizado em moinho de facas

com saída de 10 mesh. Os extratos das demais plantas foram produzidos pelo grupo do Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM), sendo utilizados nesse estudo.

Foram produzidos dois tipos de extratos, os extratos hidroalcoólicos obtidos pelo método de maceração e turbólise nas concentrações de 30:70 e 50:50 (v/v) (água:etanol). E, os etanólicos obtidos por percolação, tendo o etanol a 96°, como solvente. Após a extração, os extratos etanólicos foram evaporados a vácuo.

#### ***4.2.2 Coleta, limpeza, secagem, moagem e preparação do extrato vegetal***

Durante a coleta das plantas foram selecionadas cascas e folhas, sendo estas lavadas, e alocadas em bandejas higienizadas para secagem em estufa de circulação de ar, distribuídas de maneira homogênea otimizando a desidratação uniforme. A partir da análise visual da planta de *Shinopsis brasiliensis* após coleta, foram observadas características inerentes como: coloração verde, tamanho foliar pequeno, odor cítrico, marcante e agradável.

No decorrer do processo de secagem, as folhas e as cascas foram adquirindo coloração verde claro e marrom claro, respectivamente. Posteriormente, o material seco foi preparado para ser moído e observou-se a desidratação e conseqüentemente perda de massa entre a fase inicial e a fase final. O rendimento total após moída foi de 520,78 g de droga vegetal, correspondendo a 18,69 % da massa inicial.

O método de secagem das plantas medicinais pode ser descrito como um processo simultâneo de transferência de calor do ar de secagem para a planta úmida, e massa de água da planta para o ar de secagem. Essa troca tem função de promover, através da redução do teor de água, a estabilização do metabolismo da planta, redução da atividade microbiana e a inativação da atividade enzimática que podem degradar os princípios ativos existentes, contribuindo para o armazenamento e a disponibilização do material vegetal durante o ano (GONELI, 2014).

A prática adequada da técnica de secagem e a compreensão dos fatores que podem comprometer o processo, é essencial para que a biomassa produzida pela planta e suas propriedades terapêuticas possam ser preservadas e utilizadas de forma integral e efetiva (MARTINS et al., 2015).

O princípio da extração é liberar os compostos da estrutura da matriz vegetal a fim de se obter extratos com elevadas concentrações dos compostos presentes em pequenas quantidades na matriz sólida natural dos vegetais. Os extratos de plantas são obtidos a partir de extração por solvente como água, metanol, etanol, clorofórmio, diclorometano, acetona, hexano

e outros. Assim, a escolha da técnica de extração adequada e do solvente é um dos procedimentos mais importantes para melhorar o rendimento da extração (CHEN et al., 2018).

A composição e concentração de componentes são variáveis que dependem de muitos fatores como período de colheita, armazenamento, condições de cultura, a metodologia de extração, a natureza da matriz vegetal, o tamanho das partículas, o solvente e a concentração utilizada, o tempo e a temperatura de extração. Os extratos aquosos e alcoólicos possuem constituintes diferentes de acordo com a solubilidade de cada solvente utilizado no preparo do extrato. No estudo de Ghasempour et al. (2016) o extrato etanólico apresentou resultados antimicrobianos mais satisfatórios em relação ao extrato aquoso. Isso se deve pela quantidade de fenólicos no extrato etanólico, em relação ao extrato aquoso.

Entre os métodos de extração, o emprego de solventes orgânicos é bastante comum, podendo ser combinado com agitação e/ou aquecimento. Porém, há necessidade de um controle rigoroso no uso desses solventes, alguns desses fatores são a polaridade, o tempo e a temperatura de extração, de modo que impeça a contaminação do meio ou destruição dos compostos do extrato. (ROSTAGNO et al., 2003; CASTRO et al., 2011; ZOU et al., 2013; VIERA, 2016).

O método de secagem por atomização denominado *spray drying*, foi utilizado por sua habilidade de alterar os extratos líquidos em pós com características importantes (teor de umidade, tamanho, morfologia, densidade e estabilidade química) que foram desenvolvidos sequencialmente em três etapas: atomização, desidratação e coleta de pó. Os produtos particulados secos foram recuperados por pulverização do líquido em uma corrente de gás de secagem (CORTÉS-ROJAS; SOUZA; OLIVEIRA, 2015; CHAUL et al., 2017).

A técnica apresentou vantagens técnicas como redução no tempo de produção devido a características favoráveis, como a flexibilidade e acessibilidade operacional, gerando um produto de melhor qualidade. Apesar de ser um processo sob condições de temperaturas relativamente altas, o tempo de contato entre as gotículas e o ar é bastante rápido, e por isso não ocorrem degradações significativas de muitos dos constituintes dos extratos (VLADIĆ et al., 2016).

#### **4.2.3 Técnica de Secagem**

Os extratos hidroalcoólicos foram submetidos à secagem por nebulização em um aparelho Spray Dryer, da marca LM SD 5.0 (Labmaq®, Brasil) com sistema de atomização de bico duplo fluido, com alimentação das dispersões à câmara de secagem realizada na parte inferior através de uma bomba peristáltica, na qual se controlou a vazão em 5 L.h<sup>-1</sup>. As

condições de secagem foram: temperatura de entrada = 120 °C, vazão do soprador = 2,8 m<sup>3</sup>.min<sup>-1</sup>, vazão de ar comprimido = 40 L.min<sup>-1</sup>.

#### 4.2.4 Avaliação Microbiológica

##### 4.2.4.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

Para avaliação da atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) de *Candida albicans* (18804), *Escherichia coli* (25922), *Staphylococcus aureus* (25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (27853). As cepas ATCC reativadas foram mantidos em tubos, contendo 10 mL de ágar nutriente inclinado e incubado a 36 ± 0,5°C, por 24 horas, para bactérias; e 22,5 ± 2,5°C, para fungos. A suspensão de cada microrganismo foi obtida transferindo a cultura crescida sobre o meio inclinado, com alça estéril, para um tubo de ensaio contendo 3 mL de solução salina estéril.

O inóculo microbiano foi padronizado, conforme descrito na *The United States Pharmacopeia*, em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 625 nm, para bactérias, equivalente a 106 UFC/mL; e 580 nm, para fungos, a qual foi equivalente a 104 UFC.mL<sup>-1</sup>.

O ensaio foi realizado pelo método da microdiluição, utilizando microplacas, contendo 190 µL/poço do caldo triptona de soja previamente inoculado, com o microrganismo a ser analisado. Os extratos foram diluídos em DMSO a 10%, nas concentrações de 1000 a 0,078 µg/mL, sendo adicionados 10 µL de cada extrato nos poços contendo o meio inoculado. Como controle positivo foi utilizado gentamicina para *E. coli* e *P. aeruginosa*, cefalexina para o *S. aureus* e fluconazol, para *C. albicans*. e, como controle negativo a solução de DMSO a 10%. As placas foram incubadas a 36 ± 0,5°C, por 24 horas, para bactérias, e 22 ± 2,5°C, por cinco dias, para fungos. A CIM foi definida como a menor concentração do extrato que inibiu o crescimento microbiano, confirmado pela leitura em espectrofotômetro a 625 nm.

##### 4.2.4.2 Avaliação da ação conservante

Para a pesquisa de patógenos contaminantes seguiu-se a técnica de semeadura em profundidade, segundo o método da Farmacopeia Brasileira onde sob a capela de fluxo laminar colocou-se em placas de Petri uma alíquota de 1 mL de cada diluição, para as duplicatas contendo o produto e o mesmo foi feito para as duplicatas contendo a base, vertendo-se cerca de 20 mL de Agar Soybean Casein Digest Agar e ágar Sabouraud-Dextrose Agar, liquefeito e estéril, sobre cada uma das placas, seguido de homogeneização. Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa durante 4 dias de inoculação a 30-37 °C, para bactérias e 7 dias a 20-25°C para fungos (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2019).

Após o tempo estabelecido foi realizada a contagem de bactérias e identificação morfológica dos fungos.

#### **4.2.5 Determinação do marcador químico**

O extrato nebulizado foi avaliado quanto à sua composição fitoquímica. As quantificações de polifenóis e flavonóides totais foram realizadas por espectrofotometria na região do UV-visível, seguindo os métodos descritos por Chaves et al. e a quantificação dos taninos condensados pelo método descrito por Makkar e Becker. Os testes foram realizados em espectrofotômetro Shimadzu UVmini-1240.

##### **4.2.5.1 Taninos condensados**

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 10 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de catequina analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorvância em 500 nm. As leituras das amostras do extrato vegetal foram realizadas na presença de uma solução de vanilina, em meio ácido, relacionando os valores de absorvância encontrados com a concentração de taninos condensados da solução através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

De acordo com o procedimento técnico, distribuiu-se em tubos de ensaio 1,5 mL de solução metanólica de vanilina 4% (p/v) e posteriormente 0,25 mL de solução metanólica do extrato e 0,75 mL de HCl P.A. Os tubos permaneceram em repouso por 20 minutos, imersos em água a cerca de 22 °C. As medidas foram obtidas em triplicata, em comprimento de onda ajustado para 500 nm. A concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 0,25 mL da solução do extrato e 2,25 mL de metanol, subtraindo os valores de absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

##### **4.2.5.2 Polifenóis totais**

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 3 e 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de ácido gálico, analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorvância em 757 nm. As leituras foram realizadas com amostras das soluções do extrato vegetal na presença do reagente de Folin-Ciocalteu em meio alcalino relacionando os valores de absorvância encontrados, com a concentração de polifenóis da solução, através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

De acordo com a técnica, distribuiu-se em tubos de ensaio 0,5 mL da solução do reagente de Folin-Ciocalteu 1N e posteriormente 0,5 mL de solução do extrato. Os tubos ficaram em repouso por 2 minutos, à temperatura ambiente (25 °C). Em seguida, adicionou-se 1 mL de uma solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 20% (m/v). Os tubos ficaram em repouso novamente por 10 minutos até a reação colorimétrica ser completada. As medidas foram obtidas em triplicata, em comprimento de onda ajustado para 757 nm. A concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 0,5 mL da solução de extrato e 1,5 mL de água deionizada, onde foi subtraído os valores de absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores do que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

#### 4.2.5.3 *Flavonóides totais*

A curva padrão foi construída utilizando-se concentrações entre 2 e 28 µg mL<sup>-1</sup>, de quercetina, analisadas em aparelho anteriormente descrito, para a leitura da absorvância em 415 nm. As leituras das amostras do extrato vegetal foram realizadas na presença de soluções do cloreto de alumínio relacionando os valores de absorvância encontrados com a concentração de flavonóides da solução através de uma relação matemática obtida pela curva de calibração.

Distribuiu-se em tubos de ensaio 1,5 mL de solução metanólica de AlCl<sub>3</sub> 2% (p/v) e posteriormente 1,5 mL de solução metanólica do extrato. Os tubos ficaram em repouso por 10 minutos, à temperatura ambiente (25°C). As medidas foram obtidas em triplicata, em comprimento de onda ajustado para 415 nm. A concentração do extrato foi corrigida experimentalmente para estar dentro da faixa linear de absorvância espectral, obtida através da curva de calibração. O resultado da absorvância foi corrigido através da leitura de uma amostra contendo 1,5 mL da solução do extrato e 1,5 mL de metanol, subtraindo os valores de absorvância dos tubos sem reagentes dos tubos contendo reagentes. Os valores resultantes foram maiores que zero e estavam dentro dos limites de absorvância de trabalho.

#### 4.2.5.4 *Saponinas*

Para a quantificação de saponinas totais seguiu o método descrito por Makkar, et al. (2007). Adicionou-se uma solução de vanilina ao extrato (em metanol 80%), em seguida, adicionou-se ácido sulfúrico (72%). A leitura foi realizada em leitor de Elisa, no comprimento de onda de 544 nm. A curva de calibração foi obtida a partir de soluções de disogenina.

#### 4.2.6 Estudo pré-formulação

O estudo de pré-formulação é o passo inicial no desenvolvimento de uma forma farmacêutica. Nessa etapa são avaliadas as condições físicas e propriedades químicas de um fármaco isolado ou associado a vários excipientes. Para isso, utiliza-se um sistema de misturas binárias para esclarecer quaisquer incompatibilidades que possam surgir entre seus componentes. Dentre as diversas técnicas analíticas utilizadas na análise das misturas binárias, destacam-se as técnicas termoanalíticas, principalmente a termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise térmica diferencial (DTA) (ROJEK; WESOLOWSKI, 2017).

O principal método para investigar interações é através do preparo de misturas binárias entre o IFA e o excipiente, geralmente na proporção de 1:1 (m/m). Essas misturas podem ser diretamente analisadas por diversas técnicas analíticas ou são previamente submetidas a condições de estresse, incluindo armazenamento em temperaturas elevadas, compactação, adição de água, por exemplo (TONG; WEN, 2018).

Dessa forma, nos estudos realizados por Fernandes et al., (2018) foram desenvolvidas misturas com os excipientes farmacêuticos (carbopol 940, propilenoglicol, trietanolamina, metilparabeno, propilparabeno e octilmetoxinamato (Tabela 1), e após esse estudo de compatibilidade, o extrato foi considerado um conservante químico válido.

**Tabela 1.** Especificações dos excipientes farmacêuticos selecionados após o estudo de compatibilidade.

Excipiente	Abreviação	Categoria Funcional	Fabricante	Lote
Carbopol 940	CBP	Agente Gelificante	High Performance Polymer	CC67RZR032
Propilenoglicol	PPG	Umectante	SYNT	116123
Trietanolamina	TEA	Neutralizante; Emulsificante	All Chemistry	ALL51014
Propilparabeno	PPB	Conservante	DEG	20090823
Metilparabeno	MPB	Conservante	All Chemistry	ALL51581
Octilmetoxinamato	MCX	Filtro solar	All Chemistry	97099716K0

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

O protetor solar foi desenvolvido após o estudo de compatibilidade térmica realizada entre o extrato das folhas de *S. brasiliensis* e excipientes farmacêuticos, conforme descrito por Fernandes et al., 2018. Foram produzidos quatro tipos de

formulações, com 100 gramas cada, conforme descrito no quadro 2 de *S. brasiliensis*.

**Quadro 2.** Formulações contendo seus respectivos conservantes.

<b>Protetor solar</b>	<b>Formulação 1</b>	<b>Formulação 2</b>	<b>Formulação 3</b>	<b>Formulação 4</b>
Extrato (%)	0.1	-	-	-
Carbopol 940 (%)	2.0	2.0	2.0	2.0
Propilenoglicol (%)	4.0	4.0	4.0	4.0
Trietanolamina (%)	0.5	0.5	0.5	0.5
Extrato + conservante (metil e propilparabenos)	-	0.1	-	-
Conservante (metil e propilparabenos)	-	-	0.1	-
Octilmetoxinamato (%)	6.0	6.0	6.0	6.0
Água destilada (mL)	100	100	100	100

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

#### 4.2.6.1 Desenvolvimento do Gel de Carbopol

A formulação da base gel foi determinada a partir do que está descrito na farmacopéia brasileira (2012), ANVISA. Inicialmente pesou-se as matérias primas apresentadas no Quadro 2, em balança analítica. Para o preparo do gel de carbopol a água foi aquecida a 70°C e solubilizou-se os componentes da formulação na sequência, (exceto o carbopol e trietanolamina).

Em seguida, acrescentou-se o Carbopol 940<sup>®</sup> agitando com velocidade moderada, até a dispersão completa. A formulação permaneceu em repouso durante 24 horas, até que fosse realizado o ajuste do pH para 6,5-7, utilizando-se a trietanolamina sob agitação até formação de gel. Após o preparo dos géis, foi adicionado o extrato nebulizado de *S. brasiliensis* na formulação I. Em seguida na formulação II, adicionou-se o extrato + conservante. Na formulação III adicionou-se metil e propilparabeno na proporção de 1:1, e formulação IV permaneceu o gel base inicial, com ausência de conservante.

### 4.3 Caracterização das formulações

#### 4.3.1 Centrifugação

A centrifugação foi realizada, nos dias 7, 15, 30 e 45º dia, após o desenvolvimento



da formulação. Para isto foi retirado um grama, a qual foi submetida à centrifugação durante 15 minutos a uma rotação de 3.000 rpm. Em seguida foram avaliadas as características organolépticas da amostra e realizadas as leituras de pH.

#### ***4.3.2 Determinação do pH***

A verificação do pH foi realizada com a utilização de um pHmetro, previamente calibrado com soluções tampão, conforme descrito no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da ANVISA (BRASIL, 2004). As análises de pH foram realizadas à temperatura de 25 °C, que foram determinados através da diluição da amostra a 10% em água purificada, usando pHmetro digital Gehaka, calibrado previamente com soluções tampão pH 4,01 e 7,01.

#### ***4.3.3 Estresse Térmico***

Para esse ensaio foi retirado um grama da formulação, que foi colocada em um banho de água termostaticada nas temperaturas 40, 60 e 80 °C, permanecendo por 30 minutos em cada temperatura. Em seguida foram avaliadas as características organolépticas da amostra e o pH.

#### ***4.3.4 Ciclo gelo-degelo***

As amostras foram submetidas à condições extremas de temperatura, contemplando 4 ciclos de acondicionamento alternados diariamente em refrigerador na temperatura  $5,0 \pm 2$  °C, temperatura ambiente ( $28 \pm 2$  °C), estufa a  $45 \pm 2$  °C; freezer, na temperatura de  $-10,0 \pm 2$  °C; sendo avaliadas nos dias 7, 15, 30 e 45° dia. As formulações foram caracterizadas no início (T0) e final (T45) do ciclo. Para comparação, foram armazenadas também amostras à temperatura ambiente, sendo caracterizadas após 45 dias. Para análise de estresse térmico, a avaliação ocorreu até o 60° dia.

#### ***4.3.5 Espalhabilidade***

Para determinação desse ensaio foi utilizada a metodologia descrita em Cordeiro et al. Para isto foi utilizada uma placa de vidro (diâmetro de 20 cm e espessura de 0,2 cm), com orifício central de 1,2 cm de diâmetro. Acima desta placa foi colocada uma placa suporte de vidro posicionado sobre papel milimetrado. A amostra foi introduzida no orifício da placa e nivelada com auxílio de espátula, a placa móvel foi retirada e sobre a amostra foi colocada uma outra placa de vidro de peso conhecido, após um minuto foi realizada a leitura dos diâmetros

abrangido pela amostra em posições opostas, com auxílio do papel milimetrado e depois calculado o diâmetro médio. Este procedimento foi repetido acrescentando-se sucessivas outras placas com pesos pré-determinados em intervalos de um minuto de uma placa para outra. Obtendo-se a espalhabilidade a partir da equação abaixo.

$$E_i = \frac{d^2 \cdot \pi}{4}$$

Onde  $E_i$  é a espalhabilidade para um determinado peso da amostra.

#### **4.3.6 Análise Térmica**

As curvas de DSC foram obtidas em um analisador térmico simultâneo. As curvas de DSC foram realizadas utilizando um analisador térmico simultâneo (Shimadzu®). As amostras foram analisadas em cadinhos de alumínio, atmosfera de nitrogênio (50 mL/min), faixa de temperatura de 25 e 400°C e aquecimento de 10°C/min. A calibração do equipamento foi realizada em índio (ponto de fusão 156,6°C). Os dados foram analisados utilizando o *software* TASYs.

#### **4.3.7 Determinação in vitro do fator de proteção solar**

A determinação in vitro do FPS foi realizada seguindo o método descrito por Mansur et al. Usando um espectrofotômetro UV-Vis 12-40 (SHIMADZU, KYOTO, Japão). O FPS foi determinado para as formulações I, II, III, IV (QUADRO 1), dissolvidas em solução de álcool isopropílico e de um protetor solar utilizado como controle do teste (FPS 30).

Após a diluição das formulações em álcool isopropílico até a concentração final de 0,2 mg/ml, as absorvâncias foram determinadas na faixa de 290 a 320 nm com intervalos de 5 nm. O experimento foi realizado em triplicata para cada comprimento de onda. O FPS foi calculado usando a equação 1:

$$\text{(Equação 1) } \text{SPF}_{\text{spectrophotometric}} = \text{CF} \cdot \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \cdot \text{I} \cdot \text{Abs}(\lambda)$$

onde FPS é o fator de proteção solar;

CF é o fator de correção (=10)

EE é o efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda ( $\lambda$ );

I é a intensidade da luz solar em um comprimento de onda correspondente ( $\lambda$ );

Abs ( $\lambda$ ) corresponde à absorvância da solução de formulação contendo o filtro solar no comprimento de onda ( $\lambda$ ). Os valores de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) foram previamente determinados.

A equação 2, foi usada para calcular o valor corrigido do FPS com base no protetor solar comercialmente disponível (CP):

$$\text{(Equação 2) FPS corrigido} = \frac{\text{FPS analisado} \times \text{FPS rotulado}}{\text{FPS pc}}$$

onde FPS analisado é o valor espectrofotométrico obtido para cada formulação seguindo o método de Mansur. FPS rotulado é o valor expresso no rótulo do filtro solar comercialmente disponíveis. FPSpc é o valor comercial analisado (MEDEIROS, 2019).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Determinação fitoquímica

A tabela 2 apresenta os resultados da caracterização fitoquímica para as plantas estudadas.

**Tabela 2.** Caracterização fitoquímica realizada com os extratos das plantas estudadas.

Extratos	Taninos condensados (mg g <sup>-1</sup> )	Flavonóides totais (mg g <sup>-1</sup> )	Polifenóis totais (mg g <sup>-1</sup> )	Saponinas totais (mg g <sup>-1</sup> )
<i>S. brasiliensis</i> (folha)	13,16	70,03	386,75	171,37
<i>S. brasiliensis</i> (casca)	38,04	14,43	150,88	631,27
<i>A. pyrifolium</i> (Casca)	1,73	-	105,59	512,57
<i>P. pyramidalis</i> (Casca)	30,06	7,63	369,42	1664,83
<i>P. granatum</i> (Casca)	13,87	376	117,57	605,21

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

Produtos secundários de plantas, responsáveis pela defesa a micro-organismos, tem o potencial de serem essenciais no controle a patogênicos humanos, isto porque os seres humanos não possuem essa linha de defesa. Os alcaloides e flavonoides, por exemplo, são classes de metabólitos em que se têm relatos de seu forte potencial antimicrobiano. Os fenóis são metabólitos secundários originados da via do ácido chiquímico, relacionados com o metabolismo de carboidratos e aminoácidos aromáticos (HOLOPAINEN et al., 2018).

Foi constatada a presença de compostos polifenólicos nos extratos vegetais, com destaque nos valores de *P. pyramidalis* em concentrações de 1664,83 mg g<sup>-1</sup> de saponinas totais e 369,42 mg g<sup>-1</sup> em polifenóis totais. Para *S. brasiliensis* os resultados da quantificação de saponinas totais e polifenóis totais também ficaram em evidência, em concentrações de 631,27 mg g<sup>-1</sup> e 150,88 mg g<sup>-1</sup>, respectivamente. Em estudos realizados por Santos et. Al (2017), relataram essa dominância da quantidade de polifenóis em *S. brasiliensis* em relação aos outros compostos, na qual foram identificados 16 compostos fenólicos, dentre eles, derivados do ácido gálico a fim de verificar sua atividade antioxidante.

Através das análises fitoquímicas quantitativa observou-se uma maior quantidade de polifenóis (105,59 mg g<sup>-1</sup>) e saponinas (512,57 mg g<sup>-1</sup>) no extrato vegetal de *A pyrifolium*, seguido de um número menor de taninos, que também foi relatado por Messiades (2014).

Diversas atividades são atribuídas a estes compostos: redução da inflamação, estresse oxidativo e dano à molécula de DNA pela radiação ultravioleta (UV) na pele (STEVANATO; BERTELLE; FABRIS, 2014).

Em extrato de *P. pyramidalis* verificou-se a presença de todos os compostos fenólicos, com predominância de saponinas totais ( $1664,83 \text{ mg g}^{-1}$ ) e polifenóis totais ( $369,42 \text{ mg g}^{-1}$ ). Chaves et. al (2016), também constataram a presença desses compostos em estudo utilizando as cascas do caule de *P. pyramidalis* em extrato hidroetanólico (EtOH 50%), com destaque às concentrações de  $36,94 \pm 0,45 \text{ mg g}^{-1}$  de equivalentes de ácido gálico (polifenóis totais),  $19,09 \pm 0,78 \text{ mg g}^{-1}$  de equivalentes de quercetina (flavonoides totais) e  $59,08 \pm 0,69 \text{ mg g}^{-1}$  de equivalentes de catequina (taninos condensados).

A casca da *P. granatum* corresponde a cerca de 50% do peso total da fruta e a presença de polifenóis pode estar relacionada ao efeito antioxidante promovido pelo seu potencial de cicatrização de feridas (PEREIRA, 2015; MORAES, et al., 2017). Pinto e Costa (2016) afirmam que, em testes realizados a partir dos extratos das cascas e sementes da *P. granatum*, o resultado foi promissor em amostras da casca do fruto, indicando a presença de flavonoides. Isto corrobora com os resultados obtidos neste estudo, entre os quais verificou-se altas concentrações de flavonoides totais ( $376,61 \text{ mg g}^{-1}$ ), firmando assim analogia ao que se apresenta na literatura desse fruto.

O potencial terapêutico de uma planta é determinado pelos seus metabólitos secundários, e por meio de reações colorimétricas é possível identificar de forma quantitativa a composição destes. Diante disso, concentrações elevadas de polifenóis e flavonoides foram observadas nas folhas de *S. brasiliensis*, e por isso destacou-se em relação às demais, sendo a planta de escolha para o seguimento dos estudos. De acordo com a literatura, os flavonoides possuem alta atividade antioxidante, atividade antimicrobiana e desempenham diversas funções na planta, entre elas a proteção contra bactérias. Sua ação está ligada à sua estrutura química, sua porção lipofílica interage com a membrana plasmática do microrganismo levando à perda das funções de permeabilidade e proteção (BARBOSA, et al., 2014) (CEFALI et al., 2021; PITZ et al., 2016; SEO et al., 2017).

## **5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima**

Antes da escolha de um conservante, torna-se importante definir a sua concentração mínima efetiva, pois a sua presença em quantidades insuficientes pode resultar no crescimento de microrganismos comprometendo a qualidade do produto. Por outro lado, em quantidades

excessivas, os conservantes são normalmente substâncias tóxicas que podem por em risco a segurança do consumidor (RYBOWSKA, 2014).

Diante do exposto, fica claro que os cuidados frequentes com o controle de qualidade dos produtos cosméticos é uma condição emergente e de suma importância para o ramo farmacêutico. Produtos não estéreis possuem determinado grau de tolerância à presença de microrganismos não patogênicos, entretanto estes não devem ultrapassar aos valores limites determinados pela legislação (MATOS & CRUZ, 2019). A tabela 3 apresenta os resultados obtidos para a determinação da atividade antimicrobiana do extrato nebulizado de folhas de *S. brasiliensis*, frente à patógenos responsáveis pela contaminação microbiana de produtos cosméticos.

**Tabela 3.** Concentração inibitória mínima do extrato nebulizado de folhas de *S. brasiliensis* Engler, nos microrganismos testados.

Concentração (mg.mL <sup>-1</sup> )	Percentual de Inibição (%)			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
1,000	87,96	75,39	91,56	52,99
0,500	72,60	63,62	87,31	42,59
0,250	53,00	76,41	82,68	38,38
0,125	47,00	61,73	55,96	35,08
0,063	29,59	35,46	45,54	45,12
0,031	5,93	28,60	23,62	33,99
0,0156	3,94	21,44	11,53	29,26
0,0078	-	12,03	6,68	29,79

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

Os valores obtidos na análise de micro diluição em caldo indicaram que o potencial antimicrobiano de *S. brasiliensis* foi expressivo, mesmo quando avaliado em concentrações baixas, alcançando uma concentração inibitória mínima de 0,0078 mg mL<sup>-1</sup>, atingindo potencial de inibição de 12,03% ± 29,79%, nessa concentração. Enquanto que em concentrações mais altas, como 1,000 mg mL<sup>-1</sup>, o perfil antimicrobiano tornou-se ainda mais expressivo, atingindo valores de 52,99% ± 91,56%. Estudos anteriores relatam a atividade antimicrobiana dos extratos de folhas, casca do caule, flor, vagens e sementes contra bactérias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* (CHAVES et al., 2011; SARAIVA et al., 2011; SILVA et al., 2012).

As atividades biológicas exercidas pelos extratos de *Schinopsis brasiliensis* são bastante mencionadas na literatura. Diversos estudos foram realizados a partir de diferentes seções da planta como casca, folha e sementes, confirmando as atividades antimicrobiana, anti-inflamatória e toxicidade in vitro de extratos metanólico das folhas, onde foi considerada moderada toxicidade (SARAIVA et al., 2013).

### **5.3 Avaliação Microbiológica das formulações**

A avaliação da qualidade microbiológica de cosméticos significa a determinação da carga microbiana viável e na comprovação da ausência de microrganismos específicos considerados de risco para o usuário (OHARA; FISCHER; SAITO, 1991). A Farmacopéia Brasileira estipula em limite de contaminação de até 100UFC/ml para fungos e 300UFC/mL para bactérias (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988).

A tabela 4 apresenta os valores de redução Log<sub>10</sub> de UFC/g dos microrganismos presentes nas formulações utilizando o extrato de *S. brasiliensis*, como conservante, conservante sintético, sem conservante, em função do tempo.

**Tabela 4.** Redução Log10 de UFC/g dos microrganismos presentes nas formulações utilizando o extrato de *S. brasiliensis*, como conservante, conservante sintético, sem conservante, em função do tempo (T).

Microrganismos	Amostras	Tempo (dias)					
		T0	T2	T7	T14	T21	T28
<i>P. aeruginosa</i>	Extrato	1,30	1,69	4,00	<1	<1	<1
	Extrato + conservante	2,00	1,48	1,69	1,85	1,90	<1
	Conservante	1,69	1,95	2,38	3,60	<1	<1
	Controle negativo	4,48	4,29	3,00	4,60	3,60	4,70
<i>E. coli</i>	Extrato	7,69	3,00	2,70	3,60	<1	<1
	Extrato + conservante	3,48	<1	<1	1,30	3,00	1,78
	Conservante	4,90	<1	<1	2,00	1,60	<1
	Controle negativo	7,48	6,30	3,48	4,88	4,85	4,60
<i>S. aureus</i>	Extrato	4,08	<1	0,0	<1	1,30	<1
	Extrato + conservante	2,48	<1	<1	4,08	<1	<1
	Conservante	3,69	<1	0,0	1,78	<1	<1
	Controle negativo	6,30	5,30	7,95	3,49	3,30	3,48
<i>C. albicans</i>	Extrato	1,30	0,0	0,0	0,0	<1	0,0
	Extrato + conservante	<1	<1	0,0	<1	0,0	1,23
	Conservante	0,0	1,26	<1	0,0	0,0	<1
	Controle negativo	2,60	4,46	5,30	7,04	3,30	3,69

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

Os resultados obtidos em relação ao potencial conservante do extrato de *S. brasiliensis* frente à *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, e *Candida albicans*, foram positivos durante o tempo de exposição do T0 ao T28. Ao observar o microrganismo *Escherichia coli* por exemplo, houve redução do Log10 (UFC/g) de 7,69 para < 1, exercida pelo potencial antimicrobiano do extrato presente na formulação I, comprovando a ação antimicrobiana desses sistemas.

Pelos dados da Tabela 4, verifica-se que o patógeno de *Candida albicans* apresentou uma evidência de crescimento menor nas amostras, apresentando ausência em T28 frente à formulação I. Semelhante a outros estudos, a ocorrência de baixa frequência de fungos e leveduras ocorrem devido à presença de parabenos, como conservante, na maioria dos cosméticos, pois são particularmente ativos contra fungos e leveduras. Esses resultados



corroboram com a Farmacopéia Brasileira (1988), a qual estipula um limite de contaminação de até 100 (UFC/mL) para fungos (hifas e leveduras), que devem ser evitados em produtos farmacêuticos e cosméticos, principalmente os causadores de dermatofitoses, como o *Aspergillus*.

Diante disso, os resultados apontam que nas formulações, o potencial conservante exercido pela presença do extrato da folha de *S. brasiliensis* reduziu o teor de microrganismos presente nas formulações até o período final da análise, sendo notória a redução do Log10 (UFC/g).

#### 5.4 Ensaios físico-químicos e ensaio preliminar de estabilidade física das formulações produzidas

As amostras foram submetidas a um ciclo de resfriamento e aquecimento (gelo-degelo) a fim de observar as possíveis alterações de suas características em função das diferentes condições de temperatura de armazenamento. As formulações foram também avaliadas em função do tempo, e para comparação foram utilizadas como parâmetro amostras armazenadas à temperatura ambiente.

##### 5.4.1 Características Organolépticas

Com o objetivo de verificar alterações como separação de fases, precipitação e turvação, possibilitando o reconhecimento primário do produto (BRASIL, 2007). As características organolépticas do gel foram observadas durante 60 dias em diferentes temperaturas, tendo como parâmetro de comparação as características obtidas imediatamente após a manipulação das formulações, as características cor, odor e aspecto estão descritas na Tabela 5.

**Tabela 5.** Avaliação das características organolépticas das formulações FI (carbopol + extrato); FII (carbopol + extrato + metil e propilparabeno); FIII (carbopol + metil e propilparabeno); FIV (carbopol), gel base.

Amostras	Cor	Odor	Aspecto
FI	Modificada	Normal, S/A	Normal, S/A
FII	Levemente modificada	Normal, S/A	Normal, S/A
FIII	Normal, S/A	Normal, S/A	Normal, S/A
FIV	Normal, S/A	Normal, S/A	Normal, S/A

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

Legenda: S/A: Sem alteração.

Imediatamente após a manipulação, as formulações apresentava-se com aspecto semi-sólido, homogêneo e brilhoso, de cor branca, e na presença do extrato levemente bege e odor normal (Figura 2).

Ao final das oito semanas de observação, constatou-se que os parâmetros analisados se mantiveram normais dia após dia (Figura 3), já que não foram observadas mudanças como separação de fases, formação de grumos, alteração de cor ou odor. Assim, a formulação pode ser considerada macroscopicamente estável nas condições empregadas.

**Figura 2.** Gel base do protetor solar.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

**Figura 3.** Formulações I, II, III e IV.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

#### **5.4.2 Determinação do pH**

A determinação do pH indica se uma solução é ácida ou alcalina, fundamentado no logaritmo da concentração de íons hidrogênio, servindo para verificar a compatibilidade do produto com a pele do paciente e garantir a estabilidade da formulação. Os valores de pH estão

compreendidos entre 1 (ácido) a 14 (alcalino), sendo 7 o pH neutro (BRASIL, 2008; MANÇO et al., 2015). As médias dos valores de pH estão descritas nas tabelas abaixo (6, 7, 8 e 9), os quais foram medidos no tempo 0, 7, 15, 30, 45 e 60, os quais não revelaram alterações significativas durante os testes.

### 5.4.3 Centrifugação

O teste de centrifugação foi realizado como análise preliminar, a fim de determinar qualquer sinal de instabilidade indicativa de necessidade de reformulação (BRASIL, 2004). Para Firmino e colaboradores (2011), o teste de centrifugação é utilizado para avaliar a estabilidade física dos cremes.

Assim, quando submetidos à centrifugação, caso o creme não tenha boa estabilidade, haverá a tendência de separação dos componentes, bem como variação de pH. Portanto, são apresentados abaixo os valores de pH obtidos durante o ciclo gelo-degelo em intervalos de dias.

**Tabela 6.** Dados dos valores de pH da formulação ambiente em concentrações de 0,05, 0,1, 0,2. Sendo, CN = C = controle negativo (ausência de conservante), CP = controle positivo (conservante metil+propilparabeno), SD = desvio padrão, CV% = coeficiente de variação.

		Formulações				
	Dias	0,05	0,1	0,2	CP	CN
Média	0	5,96	5,18	5,19	5,3	5,77
SD		0,48	0,06	0,015	0,03	0,13
CV%		7,94	1,17	0,29	0,33	2,33
Média	7	6,46	5,42	5,81	5,18	5,42
SD		0	0,06	0,04	0,33	0,06
CV%		0	1,17	0,73	6,41	1,17
Média	15	5,68	5,67	5,39	5,09	5,53
SD		0,30	0,07	0,23	0,09	0,07
CV%		5,34	1,24	4,19	1,80	1,40
Média	30	5,06	5,61	5,64	5,61	5,8
SD		0	0,06	0,06	0,05	0,03
CV%		0	1,13	1,00	1,00	0,48
Média	45	4,57	5,32	5,02	4,89	5,15
SD		0,15	0,28	0,04	0,05	0,12
CV%		3,40	5,32	0,84	1,15	2,33
Média	60	3,47	3,61	4,08	4,52	4,49
SD		0,25	0,02	0,12	0,09	0,04
CV%		7,33	0,58	2,94	2,03	0,94

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

**Tabela 7** - Dados dos valores de pH da formulação estufa em concentrações de 0,05, 0,1, 0,2. Sendo, CN = C = controle negativo (ausência de conservante), CP = controle positivo (conservante metil+propilparabeno), SD = desvio padrão, CV% = coeficiente de variação.

<b>Formulações</b>						
	<b>Dias</b>	<b>0,05</b>	<b>0,1</b>	<b>0,2</b>	<b>CP</b>	<b>CN</b>
Média	0	6,35	5,86	5,81	5,35	5,55
SD		0,07	0,16	0,14	0,07	0,21
CV%		1,11	2,89	2,43	1,32	3,82
Média	7	6,16	5,63	5,66	5,19	5,36
SD		0,05	0,13	0,16	0,05	0,18
CV%		15,25	0,37	0,37	0,95	3,69
Média	15	5,26	5,56	5,38	5,54	5,51
SD		0,10	0,25	0,04	0,06	0,03
CV%		2,01	4,57	0,91	1,14	0,64
Média	30	5,07	5,25	5,05	5,11	5,60
SD		0,64	0,40	0,12	0,07	0,36
CV%		12,67	7,66	2,09	1,52	6,43
Média	45	4,58	4,82	5,41	5,63	5,88
SD		0,04	0,01	0,05	0,03	0,13
CV%		0,92	0,14	1,05	0,62	2,28
Média	60	3,81	3,71	4,54	4,24	4,54
SD		0,24	0,07	0,13	0,01	0,01
CV%		6,32	1,91	2,80	0,33	0,15

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

**Tabela 8** - Dados dos valores de pH da formulação freezer em concentrações de 0,05, 0,1, 0,2. Sendo, CN = C = controle negativo (ausência de conservante), CP = controle positivo (conservante metil+propilparabeno), SD = desvio padrão, CV% = coeficiente de variação.

(continua)

<b>Formulações</b>						
	<b>Dias</b>	<b>0,5</b>	<b>0,1</b>	<b>0,2</b>	<b>CP</b>	<b>CN</b>
Média	0	6,85	6,45	5,5	5,295	5,35
SD		0,07	0,07	0,28	0,43	0,35
CV%		1,03	1,09	5,14	8,14	6,61
Média	7	6,73	6,34	5,39	5,06	5,2
SD		0,26	0,02	0,02	0,15	0,15
CV%		3,99	0,33	0,39	3,07	2,99
Média	15	6,12	4,47	5,96	5,57	5,80
SD		1,10	0,21	0,41	0,12	0,00
CD%		18,02	4,74	6,88	2,15	0,12
Média	30	4,88	5,86	5,4	5,31	5,99
SD		0,08	0,19	0,23	0,13	0,34
CV%		1,74	3,37	4,19	0,14	0,34

**Tabela 8** - Dados dos valores de pH da formulação freezer em concentrações de 0,05, 0,1, 0,2. Sendo, CN = C = controle negativo (ausência de conservante), CP = controle positivo (conservante metil+propilparabeno), SD = desvio padrão, CV% = coeficiente de variação.

Dias		0,05	0,1	0,2	CP	CP
Média	45	5,24	5,11	5,4	5,63	5,88
SD		0,11	0,15	0,05	0,03	0,13
CV%		2,02	2,90	1,04	0,63	2,28
Média	60	4,04	4,51	4,34	4,67	4,62
SD		0,07	0,09	0,07	0,02	0,12
CV%		1,92	2,19	1,79	0,45	2,75

**Tabela 9.** Dados dos valores de pH da formulação refrigerador em concentrações de 0,05, 0,1, 0,2. Sendo, CN = C = controle negativo (ausência de conservante), CP = controle positivo, SD = desvio padrão (conservante metil+propilparabeno), CV% = coeficiente de variação.

Dias		Formulações				
		0,05	0,1	0,2	CP	CP
Média	0	6,85	5,9	5,245	5,245	5,45
SD		0,07	0,28	0,36	0,50	0,07
CV%		1,03	4,79	6,87	9,57	1,29
Média	7	6,79	5,65	5,19	5,01	5,32
SD		0,04	0,11	0,03	0,01	0,05
CV%		0,62	2,00	0,68	0,28	1,06
Média	15	5,05	5,67	5,23	5,38	5,74
SD		0,42	0,18	0,04	0,01	0,24
CV%		8,25	3,24	0,94	0,13	4,18
Média	30	5,90	6,22	5,51	5,17	5,42
SD		0,99	0,32	0,30	0,31	0,18
CV%		16,88	5,12	5,51	8,33	3,39
Média	45	5,29	5,72	5,66	5,67	5,97
SD		0,09	0,33	0,19	0,05	0,11
CV%		1,74	5,80	3,49	0,99	1,89
Média	60	4,96	4,33	5,08	4,41	4,76
SD		1,32	0,05	0,03	0,03	0,09
CV%		26,63	1,31	0,55	0,64	2,07

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

O teste de centrifugação realizado em rotação crescente após 24 horas da produção das formulações, demonstrou que as quatro formulações apresentaram aspecto normal, sem nenhum indício de instabilidade e inalteradas, tais como: cremagem, separação de fases, ou

sedimentação. Dessa forma, não houve necessidade de reformulação do produto permitindo o prosseguimento dos demais ensaios.

Por meio dessa análise, verificou-se que resultados de pH atingiram valores dentro do limiar de pH cutâneo, com predominância das médias entre 5 a 6. As diferenças entre elas são discretas, não muito distantes das médias de referência. Deve-se considerar que o pH ideal de uma formulação necessita estar de acordo com o pH de estabilidade dos componentes utilizados e o de tolerância biológica para produtos cutâneos, variando entre 5,5 e 8,0 (SOUZA et al., 2017).

Deste modo, os valores de pH da formulação encontram-se dentro dos critérios de aceitabilidade para produtos de uso tópico, assim como não houve indícios de incompatibilidade entre os componentes da formulação, que poderiam ocorrer por reações de hidrólise, oxidação ou contaminação bacteriana (SOUZA; CAMPOS; PACKER, 2013).

#### ***5.4.4 Estresse Térmico***

Para garantir a viabilidade das formulações, as amostras das formulações foram submetidas a ensaios de estresse térmico. A Figura 4 mostra o perfil de estabilidade das formulações em diferentes condições de armazenamento.

**Figura 4** – Perfil de estabilidade das formulações desenvolvidas quando submetidas a diferentes condições de estocagem.

Gráfico 1- Estresse térmico freezer.

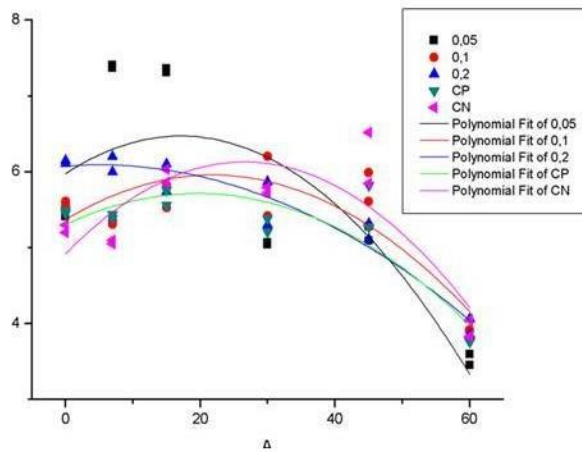


Gráfico 2 - Estresse térmico estufa

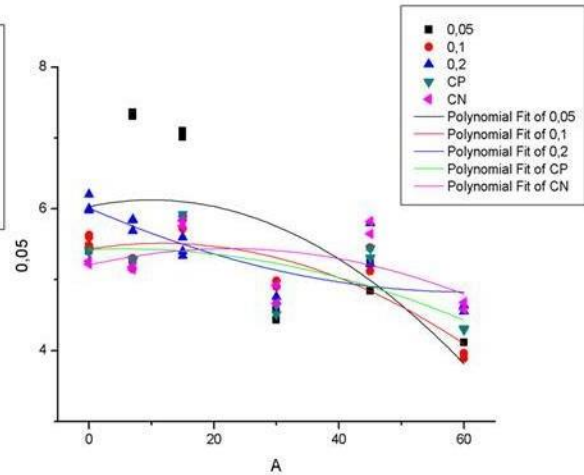


Gráfico 3 - Estresse térmico ambiente.

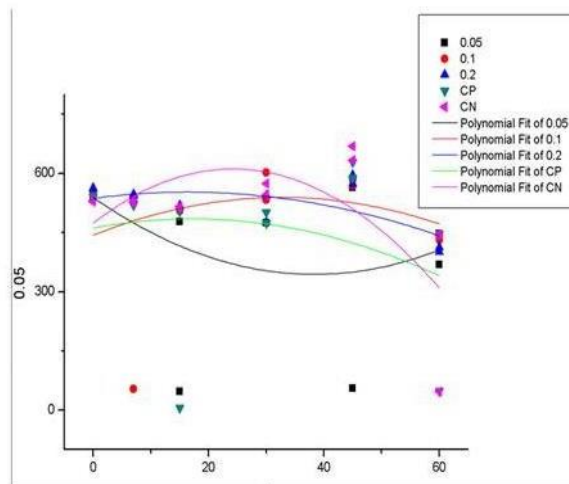
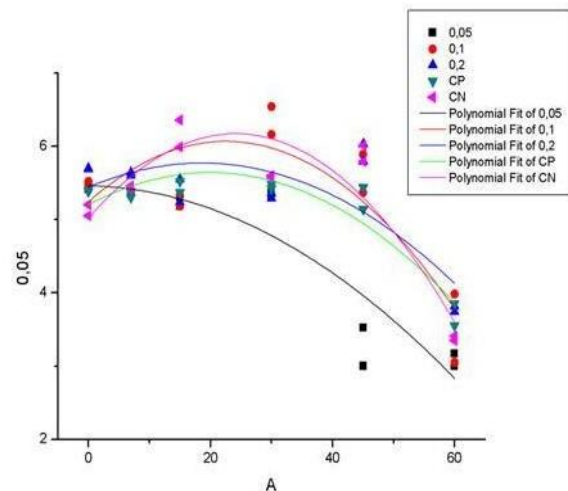


Gráfico 4 - Estresse térmico refrigerador.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

Quando submetidas ao estresse térmico, verificou-se que as formulações em condições de freezer permaneceram inalteradas até o 45º dia, posteriormente foi verificada uma queda linear nos valores das medidas de pH, sendo mais notável no 60º dia. Esses valores variaram de  $5,44 \pm 0,5$  (1º dia) a  $3,95 \pm 0,4$  (60º dia). Isso corrobora com estudos realizados por Deuschle (2015), no qual constatou-se que temperaturas elevadas podem acelerar reações químicas, alterando a atividade de componentes, como também outros aspectos da formulação: viscosidade, aspecto ou odor.

Na figura 4, gráfico 3, pode ser observada uma estabilidade mais evidente no decorrer dos dias em teste. Isso pode estar relacionado às condições de temperaturas em que as

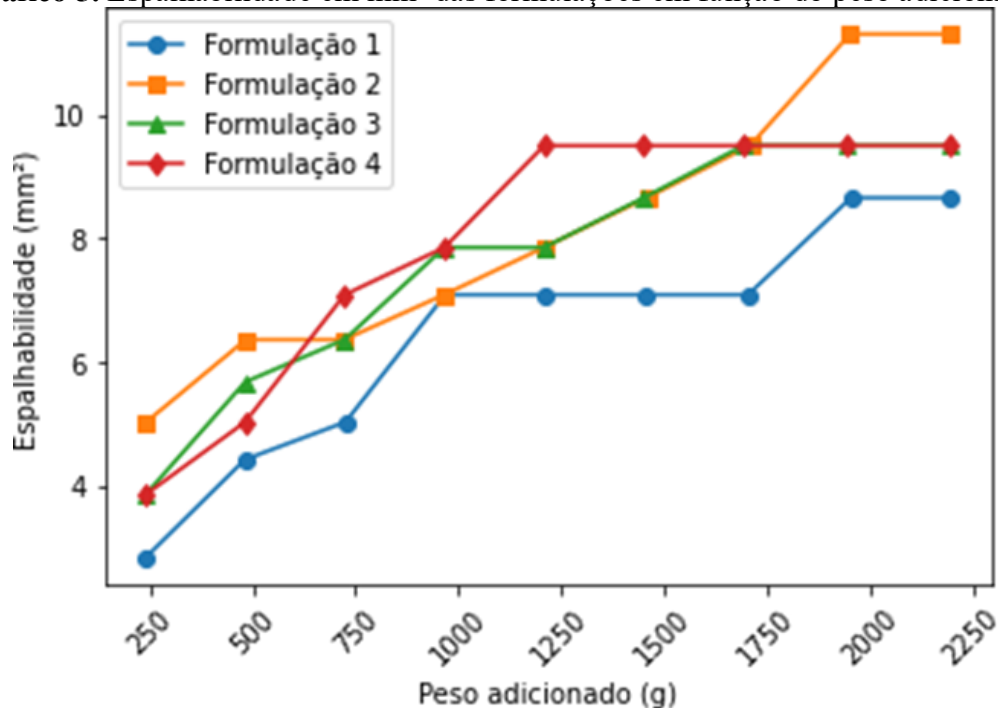
formulações estariam expostas. Nestas condições, verifica-se um melhor comportamento no perfil de estabilidade da formulação em temperatura ambiente.

#### 5.4.5 Espalhabilidade

A espalhabilidade é utilizada para avaliar possíveis alterações nas características da formulação durante o estudo, no que se refere a valores reproduzidos nas condições de armazenamento. A partir dessa análise, foi possível determinar a capacidade das formulações de se espalhar quando submetidas a uma determinada força, buscando reproduzir as condições de esforço necessárias para aplicação na pele. Este parâmetro é importante para acompanhar modificações na capacidade da fórmula em espalhar sob uma determinada área (BORGHETTI; KNORST, 2006; FRANCO; BOCHI, 2013).

Em relação aos fotoprotetores, a espalhabilidade está ligada à eficácia pois, assim que aplicado à pele, este deverá formar um filme homogêneo. Assim, para avaliar o impacto da mudança na viscosidade das formulações foi determinada a espalhabilidade das amostras, cujos perfis estão representados na figura 5.

**Gráfico 5.** Espalhabilidade em  $\text{mm}^3$  das formulações em função do peso adicionado.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

De maneira geral, as amostras apresentaram valores satisfatórios em seu perfil de espalhabilidade, pois houve um crescimento gradual da espalhabilidade na medida em que os



pesos foram adicionados, e revelaram comportamentos paralelos. Entretanto, embora tenham apresentados resultados semelhantes, a formulação II destacou-se por apresentar um perfil de espalhabilidade superior em relação às demais, que contém a proporção de 1:1 de extrato nebulizado e conservantes.

Ao observar a espalhabilidade exercida pela formulação I, verifica-se uma espalhabilidade levemente diminuída quando comparada às demais amostras, embora que não houve perda significativa em seu perfil de espalhabilidade. Este resultado corrobora com estudos desenvolvidos por Chorilli et al., (2006), quando relata que as formulações com elevado FPS podem expressar menor espalhabilidade, uma vez que, é necessária uma maior quantidade de filtros químicos e físicos nestas formulações.

## **5.5 Análise Térmica**

A análise térmica é baseada na interpretação dos picos endotérmicos e exotérmicos, que aparecem ao longo das curvas. Esses eventos nos permitem definir informações qualitativas e quantitativas, através do formato e posição de tais picos, por exemplo (FERNANDES et al., 2018; SANTANA et al., 2018).

Neste estudo o gel foi escolhido para veicular o extrato nebulizado de *S. brasiliensis*, por ser uma forma farmacêutica de simples obtenção, composta por poucos excipientes, e por ativos fotoprotetores, que atende a todos os tipos de pele, principalmente as oleosas ou acneicas (SCHALKA et al., 2014).

A estabilidade térmica das amostras das formulações foi analisada em intervalos de dias, 0, 7, 15, 30, 45 e 60, as quais foram avaliadas de acordo com as condições de armazenamento de fogão, freezer, refrigerador e temperatura ambiente. Os dados estão descritos na tabela abaixo.

### **5.5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial**

Os dados relativos aos picos DSC e as etapas de decomposição encontram-se descritos nas Tabela 10.

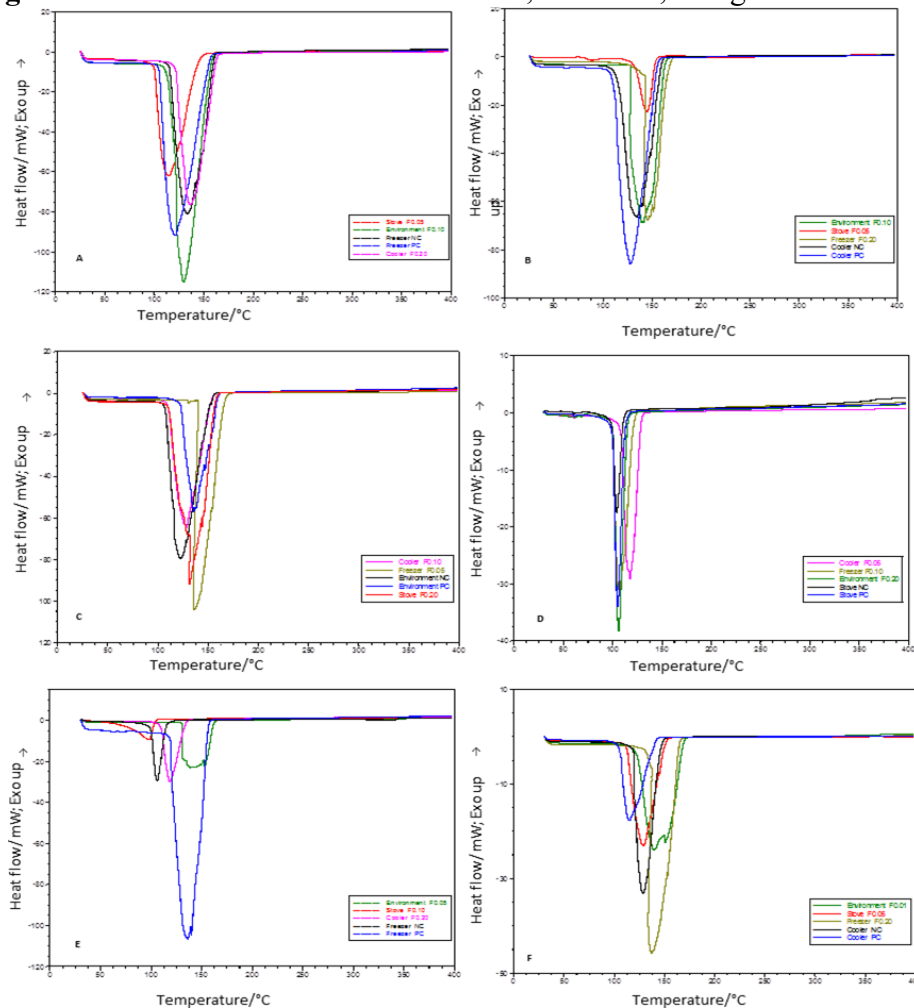
**Tabela 10.** Descrição das etapas de degradação térmica das amostras estufa, ambiente, refrigerador e congelador, nos respectivos intervalos de dias, 0, 7, 15, 30, 45 e 60.

<b>Dias</b>	<b>Amostras</b>	$T_{picol}/^{\circ}C$	$T_{inicial\ e\ final}/^{\circ}C$	$\Delta H/ J/g^{-1}$
<b>T0</b>	Estufa 0.05	114.44	86.82-157.86	97.56
	Ambiente 0.1	129.69	102.45-162.48	16.389
	Refrigerador 0,02	136.82	121.71-169.59	10.997
	Freezer CP	121.47	104.31-162.19	16.078
	Freezer CN	133.04	115.28-164.61	13.300
<b>T7</b>	Estufa 0.05	87.93	77.23-108.49	93.28
	Ambiente 0.1	140.67	127.67-167.81	98.96
	Freezer 0.2	146.00	144.01-172.43	60.05
	Refrigerador CP	127.90	102.81-159.64	13.272
	Refrigerador CN	134.22	108.49-162.84	10.496
<b>T15</b>	Freezer 0.05	136.38	140.46-172.43	97.53
	Refrigerador 0,1	128.39	100.68 – 160.00	95.15
	Estufa 0.2	131.48	104.94 – 162.13	13.390
	Ambiente CP	135.91	107.78 – 163.55	71.33
	Ambiente CN	122.72	102.10-157.51	12.109
<b>T30</b>	Refrigerador 0.05	117.48	96.06 – 132.29	22.51
	Freezer 0.1	106.68	90.73 – 129.89	25.03
	Ambiente 0,2	106.12	95.70 – 121.99	18.89
	Estufa PC	105.08	93.57 – 120.57	14.84
	Estufa CN	104.08	88.25 – 120.92	76.580
<b>T45</b>	Ambiente 0.05	153.08	129.45 – 171.36	34.35
	Estufa 0.1	97.57	64.80 – 108.49	99.500
	Refrigerador 0.2	118.31	95.35 – 141.88	26.03
	Freezer CP	136.02	115.24 – 160.35	14.676
	Freezer CN	105.87	93.57 – 126.61	15.34
<b>T60</b>	Estufa 0.05	129.74	112.32 – 159.64	30.40
	Ambiente 0.1	139.66	122.87 – 173.85	42.79
	Freezer 0.2	137.15	127.67 – 168.17	51.13
	Refrigerador PC	114.96	105.94 – 146.14	21.95
	Refrigerador NC	128.79	119.21 – 153.60	33.60

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

A Figura 6 representa as curvas DSC do extrato da folha de *Shinopsis brasiliensis* durante o ciclo Gelo-Degelo.

**Figura 6.** Curvas DSC das amostras estufa, ambiente, refrigerador e freezer.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2022.

Na Figura 6 estão apresentadas as curvas DSC obtidas para as amostras das formulações estufa, ambiente, refrigerador e freezer, representadas nos gráficos A, B, C, D e E. O processo de decomposição térmica ocorreu com formação de mais eventos endotérmicos a partir de 136,82°C expresso pela formulação refrigerador (0,02 mg/mL), iniciando a variação de 121,79°C a 169,59°C, com entalpia de  $\Delta H$  10,997 J.g<sup>-1</sup>. O primeiro pico foi observado entre 86,82°C e 157,86°C, respectivo da formulação estufa (0,05 mg/mL). Neste observou-se a maior entalpia verificada em  $\Delta H$  97,56 J.g<sup>-1</sup>, valores elevados de entalpia sugerem que nestas temperaturas ocorreram os eventos envolvendo maior liberação de energia na decomposição térmica das amostras. terceiro pico ocorreu entre 104,31°C e 162,19°C, com entalpia  $\Delta H$  16,078 J.g<sup>-1</sup>. Houve uma discreta separação deste evento em um quarto pico, de ocorrência entre 115,28°C e 164,61°C.

Com base no gráfico B, observa-se um primeiro pico mais discreto daquele ocorrido no gráfico A. Foram verificados cinco eventos endotérmicos, marcados com um pico mais

expressivo em temperatura de 146,00°C, referente à formulação congelador controle positivo, com degradação térmica inicial em 144,01°C a 172,43°C, e entalpia  $\Delta H$  60,05 J.g<sup>-1</sup>. O primeiro pico ocorreu na temperatura 87,93°C, iniciando em 77,23°C à 108,49°C com entalpia de  $\Delta H$  93,28 J.g<sup>-1</sup>. O segundo pico de variação térmica apresentou um pico na temperatura de 140,67°C, e entalpia de 98,96 J.g<sup>-1</sup>. Os seguintes eventos foram marcados por entalpias de valores menores.

A análise por DSC das formulações (Gráfico C), demonstra que a mistura assume as características do extrato. Com a diminuição da concentração do extrato no estudo, na formulação freezer, um pico com temperatura de 136,38°C foi observado, provavelmente relacionado à perda de umidade da amostra. Neste caso, ocorreram variações de energia nos picos de calor, dentro de uma gama bastante ampla: entre  $\Delta H$  97,53 e 12,109 J g<sup>-1</sup>, podendo estar associada a uma grande variedade de metabólitos secundários, presentes em matérias-primas de origem vegetal, principalmente compostos fenólicos.

No gráfico D, avaliou-se as variações térmicas das formulações em T30 apresentando menores variações nos valores de entalpia. A amostra estufa controle negativo apresentou uma entalpia de valor mais expressivo, sendo  $\Delta H$  76,580 J g<sup>-1</sup>.

De acordo com os resultados, a maioria das misturas entre extrato e excipientes não apresentam variações significativas nos perfis térmicos esperados. Os valores de entalpia variaram proporcionalmente aos teores das substâncias presentes. Algumas alterações relativas à entalpia são esperadas em tais experimentos, devido a problemas na uniformidade de conteúdo de pequenas amostras utilizadas nas análises DSC (Maximiniano et al., 2011).

## 5.6 Determinação do Fator de Proteção do Protetor Solar *in vitro*

Os dados relativos à determinação do FPS das formulações estão apresentados na tabela 11.

**Tabela 11** – Valores de FPS quantificação *in vitro*.

Formulação	FPS espectrofotométrico	FPS corrigido (x10)	DP
<b>FI</b>	1,65	16	2,09
<b>FII</b>	1,01	10	0,13
<b>FIII</b>	1,47	14	1,34
<b>FIV</b>	0,92	9	1,33
<b>COMERCIAL</b>	2,68	27	1,20

Legenda: DP=Desvio Padrão.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

A avaliação do fator de proteção solar (FPS) foi determinada pelo cálculo proposto por Mansur (1986a; 1986b) que relaciona a absorbância do extrato com o efeito eritematogênico da radiação e a intensidade da luz em comprimentos de ondas entre 290 a 320 nm (espectro específico da região UVB).

O FPS 16 referente à formulação I pode ser evidenciado, pois está intimamente relacionado à presença do extrato de braúna associado ao octilmetoxinamato, o efeito sinérgico entre eles explica esse potencial fotoprotetor. Quando comparado ao FPS das formulações III e IV, por exemplo, verifica-se que na ausência do extrato o potencial fotoprotetor tornou-se menos expressivo. Isto corrobora com estudos que relacionaram a eficácia da atividade fotoprotetora com a capacidade de absorção de energia radiante atribuída aos grupos cromóforos nos extratos de plantas, que é proporcional à sua concentração (Violante et al., 2008; Maillan et al., 2005; Ribeiro et al., 2004; Silva Filho et al., 2003).

Levando em consideração o fator de proteção solar (FPS) determinado pela RDC 30, de 01 de junho de 2012, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2012), o uso dessas formulações com finalidade fotoprotetora é viável, pois o fator mínimo de proteção segundo essa resolução é de FPS 6. Dessa forma, os resultados da avaliação da atividade do extrato etanólico da casca de *Schinopsis brasiliensis* demonstraram efeito fotoprotetor no modelo experimental utilizado por Mansur, sugerindo possível aplicação para fins cosméticos em preparações dermatológicas.

## 6 CONCLUSÕES

O desenvolvimento do estudo fito-químico com os extratos das plantas do semi-árido brasileiro possibilitou a escolha racional da planta de *Shinopsis brasiliensis* para dá seguimento à pesquisa com os demais ensaios. O extrato nebulizado da braúna folha apresentou um bom perfil antibacteriano diante dos micro-organismos patogênicos, atendendo dessa forma ao que é preconizado com os compêndios oficiais.

Os ensaios físico-químicos determinaram o perfil de estabilidade das formulações obtidas, as quais apresentaram características de qualidade de acordo com os padrões exigidos pela farmacopeia brasileira de cosméticos, demonstrando a importância da escolha racional dos excipientes utilizados na formulação. A utilização da técnica analítica de DSC permitiu traçar perfis térmicos das formulações durante o ciclo Gelo-Degelo. Os diferentes metabólitos presentes no extrato promoveram às formulações atividade foto-protetora, indicada por ensaio preliminar *in vitro*.

Demonstrou-se a importância da utilização dessas técnicas para caracterizar em diferentes perfis de qualidade a formulação fotoprotetora. Tratando-se de um cosmético é necessário eliminar fatores que podem alterar propriedades importantes dos ativos, como estabilidade, eficácia e segurança. A eficácia antimicrobiana do extrato nebulizado de *S. brasiliensis* contra microrganismos patógenos, comprova o potencial antimicrobiano da planta estudada, viabilizando assim seu uso como um promissor conservante natural em cosméticos.

## REFERÊNCIAS

- ABIHPEC. Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos. **Panorama do setor - A indústria de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos**. São Paulo, 2020. Disponível em: [https://abihpec.org.br/site2019/wpcontent/uploads/2020/10/Panorama\\_do\\_Setor\\_atualizado\\_outubro\\_2020.pdf](https://abihpec.org.br/site2019/wpcontent/uploads/2020/10/Panorama_do_Setor_atualizado_outubro_2020.pdf). Acesso em 22 de outubro de 2020.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). **Resolução Nº 7, de 10 de fevereiro de 2015**. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. Diário Oficial da União 10 fev 2015.
- ARMSTRONG, B. K.; CUST, A. E. Sun exposure and skin cancer, and the puzzle of cutaneous melanoma: A perspective on Fears et al. Mathematical models of age and ultraviolet effects on the incidence of skin cancer among whites in the United States. **American Journal of Epidemiology** 1977; 105: 420–427. *CancerEpidemiology*, v.48, n.12, p. 147-156, 2017.
- ARAÚJO, D. P. et al. *Aspidosperma pyrifolium* Mart: neuroprotective, antioxidant and antiinflammatory effects in a Parkinson's disease model in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, n. 6, p. 787 - 796, 2018.
- ARUN N, SINGH DP. **Punica granatum: A review on pharmacological and therapeutic properties**. *JPSR*, Uttar Pradesh 2012; 3: 1240-1245.
- AQUINO, P.; FIGUEREDO F.G.; PEREIRA, N.; NASCIMENTO, E.; MARTIN, A.; VERAS, H. Avaliação da atividade anti-inflamatória Tópica e antibacteriana do extrato metanólico das folhas de *Sideroxylon obtusifolium*. **Acta biológica Colombiana**. v. 21, n.1, p. 131-140, 2016.
- BARBOSA, V., et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* l. e tintura de própolis frente à bactéria causadora da acne *Propionibacterium acnes*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 16, n. 2, p. 169- 173, Campinas, 2014.
- BLEDZKA, D., GROMADZINSKA, J., WASOWUICZ, W. Parabens. From environmental studies to human health. **Environ Int**. 67, 27–42. doi: 10.1016/j.envint.2014.02.007, 2014.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia brasileira**. 6.ed., v.1. Brasília: Anvisa, 2019.
- CAMPOS, M. R. S. **Bioactive Compounds: health benefits and potential applications**. Woodhead Publishing, 2019.
- CAROCHO, M., MORALES, P., FERREIRA, I.C.F.R. Natural food additives: Quo vadis? Trends in **Food Science & Technology**. Vol. 45, p. 284–295, 2015.
- CARDOSO MP, LIMA LS, DAVID JM, MOREIRA BO, SANTOS EO, DAVID JP, ALVES CQ. A new biflavonoid from *Schinopsis brasiliensis* (Anacardiaceae). **J Braz Chem Soc**. 2015;26:1527–31
- CHAVES, T.P., FERNANDES, F.H., SANTANA, C.P., SANTOS, J.S., MEDEIROS, F.D., FELISMINO, D.C., SANTOS, V.L., CATAO, R.M., COUTINHO, H.D., MEDEIROS, A.C., 2016. Evaluation of the interaction between the *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz extract and antimicrobials using biological and analytical models. **PLoS One** 11, e0155532. doi:10.1371/journal.pone.0155532

CHAVES, T.P., MEDEIROS, F.D., SOUSA, J.M.C., SILVA, L.A.P., LIMA, M.A., COUTINHO, H.D.M., MEDEIROS, A.C.D., 2019. Phytochemical Characterization and Mutagenicity, Cytotoxicity, the search in patent databases reported a single filing, which highlights the disparity between a large number of published scientific articles versus the almost nonexistent filing of patents Antimicrobial and Modulatory Activities of *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz. **Nat. Prod. Res.** 1–6 doi:10.1080/14786419.2019.1566724.

CONIDI, C.; CASSANO, A.; CAIAZZO, F.; DRIOLI, E. Separation and purification of phenolic compounds from pomegranate juice by ultrafiltration and nanofiltration membranes. **Journal of Food Engineering**, [s.l.], v. 195, p. 1-13, 2017.

COSTA, R.; SANTOS, L. Delivery systems for cosmetics - From manufacturing to the skin of natural antioxidants. **Powder Technology**, v.322, p.402-416, 2017.

DEZA G, GIMENÉZ-ARNAU AM. Allergic contact dermatitis in preservatives: current standing and future options. **Curr Opin Allergy Clin Immunol.** 2017;17(4):263-8.

D.R. OLIVEIRA. A consolidação das práticas integrativas e complementares no século 21, **Revista Ciências Da Saúde.** 30 7–8, 2018.

FERNANDES, F.H.A.; BATISTA, R.S.A.; MEDEIROS, F.D.; SANTOS, F.; MEDEIROS, A.C.D. Development of a rapid and simple HPLC-UV method for determination of gallic acid in *Schinopsis brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 208–211, 2015.

FERNANDES, F, H, A.; SANTANA, C, P.; SILVA, C, D.; SIMÕES, M, O, S.; KANEKO, T, M.; MEDEIROS, A, C, D, Development of a sunscreen by thermal compatibility study using *Schinopsis brasiliensis* Engler extract as preservative, **Journal of Thermal Analyses and Calorimetry**, v, 131, p, 753–3, 2018

FORMIGA FILHO, A.L.N, CARNEIRO, V.S.M., SOUZA, E.A, SANTOS, R.L., CATÃO, M.H.C.V., MEDEIROS, A.C.D., 2015. In vitro evaluation of antimicrobial photodynamic therapy associated with hydroalcoholic extracts of *Shinopsis brasiliensis* Engl: new therapeutic perspectives. **Photomed. Laser Surg.** 33, 240-245.

GHASEMPOUR, M.; OMRAN, S.M.; MOGHADAMNIA, A.A.; Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Lippia citriodora* on *candida albicans*. **Electron Physician.** 8(8): 2752 2758. doi: [10.19082/2752] 2016.

GENUIS SJ, BIRKHOLZ D, CURTIS L, SANDAU C. Paraben levels in an urban community of Western Canada. **ISRN Toxicol.** 2013.

GIORGIO A, MIELE L, BONIS SD, CONFORTI I, PALMIERO L, GUIDA M, LIBRALATO G, ALIVERTI F. Microbiological stability of cosmetics by using challenge test procedure. **J Pure Appl Microbiol.** 2018;12(1):23-8

GONELI, A.L.D.; VIEIRA, M.C.; VILHASANTI, H.C.B., GONÇALVES A.A. Modelagem matemática e difusividade efetiva de folhas de aroeira durante a secagem. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 56-64, 2014.

HALLA N, FERNANDES IP, HELENO SA, COSTA P, BOUCHERIT-OTMANI Z, BOUCHEIRT K, RODRIGUES AE, FERREIRA ICFR, BARREIRA MF. Cosmetics preservation: a review on present strategies. **Molecules.** 2018;23(7):1-41.



HERMAN, A. Comparison of Antimicrobial Activity of Essential Oils, Plant Extracts and Methylparaben in Cosmetic Emulsions: 2 Months Study. **Indian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 361–364, 2014.

HERMAN A. **Antimicrobial ingredients as preservative booster and components of selfpreserving cosmetic products**. *Curr Microbiol.* 2018.

HONG H, RUA D, SAKKIA S, SELVARAJ C, Ge W, TONG W. Consensus modeling for prediction of estrogenic activity of ingredients commonly used in sunscreen products. **Int J Environ Res Public Health**. 2016;13(10):958. 13.

JOVITO, V. C. **Atividade anti-Candida e análise da citotoxicidade do extrato da folha da Schinopsis brasiliensis Engl.** 2016. 47f. Dissertação (Mestrado em odontologia) –Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

JUNGMANE, LAUGEL C, BAILLET-GUFFROY. A. **Assessing the safety of parabens: percutaneous penetration and risk analysis**. *Cosmetics & Toiletries*, November 14, 2013.

KIELTYKA, Edeline; VALENTIN, Fernanda; LUBI, Neiva. **Cosméticos Naturais /Orgânicos: Uma Nova Tendência Cosmética**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tuiuti, Curitiba, mar. 2017.

“LIST OF PRESERVATIVES ALLOWED IN COSMETIC PRODUCTS,” em European Commission: Annex V, em **CosIng**, 2018.

M.S. Mahmooda, A. Ashrafb , S. Alia , A.B. Siddiquec , F. Asadb , R.Z. Abbasd , F. Siddiquee , A. Aslamf , R. Aslama and A. Rafiqueb. Portrayal of Punica granatum L. peel extract through High Performance Liquid Chromatography and antimicrobial activity evaluation. **Brazilian Journal of Biology**. vol. 83, e244435, 2021.

MARTINS, E.A.S.; LAGE, E.Z.; GONELI, A.L.D.; FILHO, C.P.H.; LOPES J.G. Cinética de secagem de folhas de timbó (*Serjania marginata* Casar). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 3, p. 238–244, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE-MS, A. N. DE V. S.-A. **Farmacopeia Brasileira**, 6ª edição. Farmacopeia Brasileira, 6ª edição, v. 1, p. 60–69, 72–85, 2019.

MUNHOZ, V. M.; LONNI, A. A. S. G.; MELLO, J. C. P. D.; LOPES, G. C. Avaliação do fator de proteção solar em fotoprotetores acrescidos com extratos da flora brasileira ricos em substâncias fenólicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 2, p. 225-232, 2012

NOWAK, K., RATAJCZAK-WRONA, W., GÓRSKA, M., JABLONSKA, E., 2018. Parabens and their effects on the endocrine system. **Mol Cell Endocrinology**. 474, 238–251. doi: 10.1016/j.mce.2018.03.014.

PEREIRA JÚNIOR, L.R.P., ANDRADE, A.P., ARAÚJO, K.D., SILVA BARBOSA, A., BRABOSA, F.M., 2014. Espécies da Caatinga como Alternativa para o Desenvolvimento de Novos Fitofarmacos. **Floresta Ambiental**. 21, 509–520. doi.org:10.1590/2179- 8087.024212.

RAMLI, N.R. Immigrant Entrepreneurs on the World’s Successful Global Brands in the Cosmetic Industry. **Procedia - Social and Behavioral Sciences**, v.195, p.113-122, 2015.

ROJEK, B.; WESOŁOWSKI, M. Compatibility studies of hydrocortisone with excipients using thermogravimetric analysis supported by multivariate statistical analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 1, p. 543-553, 2017.

ROSTAGNO, M. A.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. **Journal of Chromatography**, v. 1012, p. 119-128, 2003.

RUIVO, J. S. (2012). **Fitocosmética**: aplicação de extratos vegetais em Cosmética e Dermatologia . Porto: Universidade Fernando Pessoa.

S. SCHALKA, D. STEINER , FN RAVELLI , T. STEINER , AC TERENA , CR Marçon , et al. **Consenso brasileiro sobre fotoproteção Anais Brasileiros de Dermatologia**, 89 ( Supl. 1 ) ( 2014) , pp. S6 - S73

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio à Pequenas e Grandes Empresas (2019). Portal do SEBRAE. **Caderno de Tendências Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos 2019/2020**. São Paulo, SP.

SHAHBANDEH, M., 2019. **Value of the cosmetics market worldwide from 2018 to 2025**. Disponível em <https://www.statista.com/statistics/585522/global-value-cosmetics-market/> acesso em 14 de abril 2020.

SILVA, L. R. et al. Bioativos antimicrobianos produzidos por fungos endofíticos associados a plantas do Semiárido. **Revista Ciência Agrícola**, v. 16, p. 5-7, 2018.

SARAIVA, A.; SARAIVA, C.; CORDEIRO, R.; SOARES, R.; XAVIER, H.; CAETANO, N. Atividade Antimicrobiana E Sinérgica Das Frações Das Folhas de *Schinopsis Brasiliensis* Engl . Frente a Clones Multirresistentes de *Staphylococcus Aureus*. **Rev. Bras. Pl. Med.** 2013, 15, 199–207.

TEMER AC, TEIXEIRA MT, AS-BARRETO LL, GRATIERI T, GELFUSO GM, SILVA IC, et al. Subdivision of Tablets Containing Modified Delivery Technology: the Case of Orally Disintegrating Tablets. **J Pharm Innov** [Internet]. 2018 Sep 3;13:261 9. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12247-018-9323-3>

TONG, W. T.; WEN, H. **Preformulation aspects of insoluble compounds**. In: LIU, R. Waterinsoluble drug formulation. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. cap. 4. p. 61-90.

United States Pharmacopeia 37th ed. Rockville: **The United States Pharmacopeial Convention**; 2017.

R. C. ROWE, P. J. SHESKEY e M. E. QUINN, “**Methylparaben,**” em **Handbook of Pharmaceutical Excipients**, 6ª edition, Pharmaceutical Press, 2009, p. 442

VIERA, V. B. **Compostos bioativos, atividade antioxidante e antimicrobiana na casca de cebola roxa (*Allium cepa*L.) submetidos a diferentes métodos de extração**.123p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria,Santa Maria, 2016.

VLADIĆ, J. et al. Recycling of filter tea industry by-products: Production of *A. millefolium* powder using spray drying technique. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 197–206, 2016.