

# FARMÁCIA E PROMOÇÃO DA SAÚDE 4

IARA LÚCIA TESCAROLLO  
(ORGANIZADORA)



**Atena**  
Editora  
Ano 2020

# FARMÁCIA E PROMOÇÃO DA SAÚDE 4

IARA LÚCIA TESCAROLLO  
(ORGANIZADORA)



**Atena**  
Editora  
Ano 2020

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação:** Natália Sandrini de Azevedo

**Edição de Arte:** Luiza Batista

**Revisão:** Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernando da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília  
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
Prof<sup>a</sup> Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar  
Prof<sup>a</sup> Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas  
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof<sup>a</sup> Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
Prof<sup>a</sup> Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
Prof<sup>a</sup> Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé  
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina  
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
Prof<sup>a</sup> Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay  
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA  
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis  
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR  
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
 Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior  
 Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo  
 Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
 Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
 Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
 Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
 Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
 Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)</b> <b>(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
F233	<p>Farmácia e promoção da saúde 4 [recurso eletrônico] / Organizadora Iara Lúcia Tescarollo. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF            Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader            Modo de acesso: World Wide Web            Inclui bibliografia.            ISBN 978-65-5706-141-1            DOI 10.22533/at.ed.411202606</p> <p>1. Atenção à saúde. 2. Farmácia – Pesquisa. I. Tescarollo, Iara Lúcia.</p> <p style="text-align: right;">CDD 615</p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
 Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
 contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A importância da ciência ao longo dos tempos é indiscutível. Suas inúmeras contribuições têm garantido avanços tecnológicos que favorecem as transformações na relação do homem com o meio em que vive.

Na área farmacêutica não é diferente, grandes descobertas têm possibilitado o controle de epidemias, redução nos índices de mortalidade e aumento da vida média das pessoas. Neste contexto, a situação vivenciada mundialmente nos convida a refletir sobre a relevância do papel da ciência na dinâmica da vida das pessoas e da sociedade como um todo.

A coletânea “Farmácia e Promoção da Saúde” representa um estímulo para que pesquisadores, professores, alunos e profissionais possam contribuir com a ciência de uma forma simples e objetiva. O fio condutor que une o conjunto de textos valoriza a dimensão do conhecimento que emerge das ciências farmacêuticas. Estão reunidas pesquisas de áreas como: tecnologia farmacêutica, farmacotécnica, cosmetologia, farmacognosia, farmacologia, fitoterapia, controle de qualidade, toxicologia, microbiologia, dentre outros assuntos de áreas correlatas.

Mantendo o compromisso de divulgar o conhecimento e valorizar a ciência, a Atena Editora, através dessa publicação, traz um rico material pelo qual será possível atender aos anseios daqueles que buscam ampliar seus estudos nas temáticas aqui abordadas. Boa leitura!

Iara Lúcia Tescarollo

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS À BASE DE COMPLEXO DE INCLUSÃO CONTENDO EFAVIRENZ	
Ilka do Nascimento Gomes Barbosa José Lourenço de Freitas Neto Alinne Élda Gonçalves Alves Tabosa Stéfani Ferreira de Oliveira Victor de Albuquerque Wanderley Sales Williana Tôrres Vilela Aline Silva Ferreira Arisa Dos Santos Ferreira Maria Clara Cavalcante Erhardt Lidiany da Paixão Siqueira Rosali Maria Ferreira da Silva Pedro José Rolim Neto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4112026061</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>16</b>
ANÁLISE DE COMPRIMIDOS NÃO REVESTIDOS DE DIPIRONA ARMAZENADOS EM DIFERENTES LOCAIS DOMÉSTICOS	
Selma Mendes da Silva Moratore Viviane Gadret Bório Conceição	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4112026062</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>29</b>
UM NOVO MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DE VITAMINAS B <sub>6</sub> E B <sub>12</sub> POR CLAE	
Luciano Almeida Alves Suélen Ramon da Rosa Patrícia Weimer Josué Guilherme Lisbôa Moura Juliana de Castilhos Rochele Cassanta Rossi	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4112026063</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>41</b>
UTILIZAÇÃO DA TITULOMETRIA NA QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE ACIDEZ DE VINHOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE IRECÊ-BA	
Joice Rosa Mendes Tarcísio Rezene Lopes Tainara Nunes Mota Lara Souza Pereira Joseane Damasceno Mota Joseneide Alves Miranda Nadjma Souza Leite Thiago Brito de Almeida	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4112026064</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>51</b>
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E EM NÍVEL CELULAR DE <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (MALVACEAE)	
Joyce Bezerra Guedes Andreza Larissa do Nascimento Maria Eduarda de Sousa e Silva	



Thais Maria Sousa Andrade  
Maria do Socorro Meireles de Deus  
Ana Paula Peron  
Ana Carolina Landim Pacheco  
Márcia Maria Mendes Marques

**DOI 10.22533/at.ed.4112026065**

**CAPÍTULO 6 ..... 66**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE, CITOTÓXICIDADE E GENOTÓXICIDADE DE AROMATIZANTES PRESENTES EM MEDICAMENTOS PEDIÁTRICOS**

Maria Eduarda de Sousa e Silva  
Fabelina Karollyne Silva Dos Santos  
Mayra de Sousa Felix de Lima  
Thais Maria Sousa Andrade  
Maria do Socorro Meireles de Deus  
Ana Carolina Landim Pacheco  
Ana Paula Peron  
Márcia Maria Mendes Marques

**DOI 10.22533/at.ed.4112026066**

**CAPÍTULO 7 ..... 81**

**IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA FÚNGICA EM AMOSTRAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) COMERCIALIZADAS EM MERCADOS PÚBLICOS DA CIDADE DE JOÃO PESSOA-PB**

Gleice Rayanne da Silva  
Eurípedes Targino Linhares Neto  
Eloíza Helena Campana  
Aníbal de Freitas Santos Júnior  
Hélio Vitoriano Nobre Júnior  
Bruno Coelho Cavalcanti  
Hemerson Iury Ferreira Magalhães

**DOI 10.22533/at.ed.4112026067**

**CAPÍTULO 8 ..... 92**

**CONTROLE DE QUALIDADE DAS CASCAS DE AROEIRA COMERCIALIZADAS NO MERCADO CENTRAL DE SÃO LUÍS-MARANHÃO**

Anáyra Almeida Machado Santos  
Nágila Caroline Fialho Sousa  
Fernanda Karolinne Melo Fernandes  
Fernanda de Oliveira Holanda  
Sabrina Louhanne Corrêa Melo  
Caio de Souza Carvalho  
Denize Rodrigues de Carvalho  
Vivian Beatriz Penha da Cunha  
Laoane Freitas Gonzaga  
Mizael Calácio Araújo  
João Francisco Silva Rodrigues  
Saulo José Figueiredo Mendes

**DOI 10.22533/at.ed.4112026068**

**CAPÍTULO 9 ..... 103**

**DELINEAMENTO DE DERMOCOSMÉTICOS PARA ACNE COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE MELALEUCA E CRAVO-DA-ÍNDIA**

Lucas Henrique Nascimento Souza  
Emily Jhayane Silva  
Iara Lúcia Tescarollo

**DOI 10.22533/at.ed.4112026069**

**CAPÍTULO 10 ..... 118**

DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DE PIRULITO E GELEIA DE BIOTINA

[Bruna Aparecida dos Santos Marubayashi](#)

[Bruna Carolina Saraiva dos Santos](#)

[Nathália Larissa Cordeiro dos Santos](#)

[Aline Cristina Membribes Garcia](#)

[Juliana Agostinho Lopes Barbosa](#)

**DOI 10.22533/at.ed.41120260610**

**CAPÍTULO 11 ..... 131**

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE GEL FITOCOSMÉTICO CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)

[Flavia Scigliano Dabbur](#)

[Elinaldo Marcelino dos Santos Júnior](#)

[Rewerton Nayan de Oliveira Silva](#)

[Josefa Renalva de Macêdo Costa](#)

**DOI 10.22533/at.ed.41120260611**

**CAPÍTULO 12 ..... 144**

ANÁLISE SENSORIAL DE DERMOCOSMÉTICOS PARA ACNE COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE MELALEUCA E CRAVO-DA-ÍNDIA

[Lucas Henrique Nascimento Souza](#)

[Emily Jhayane Silva](#)

[Iara Lúcia Tescarollo](#)

**DOI 10.22533/at.ed.41120260612**

**CAPÍTULO 13 ..... 153**

ANÁLISE SENSORIAL E VIABILIDADE DA GELEIA E PIRULITO DE BIOTINA

[Bruna Aparecida dos Santos Marubayashi](#)

[Bruna Carolina Saraiva dos Santos](#)

[Nathália Larissa Cordeiro dos Santos](#)

[Aline Cristina Membribes Garcia](#)

[Juliana Agostinho Lopes Barbosa](#)

**DOI 10.22533/at.ed.41120260613**

**CAPÍTULO 14 ..... 160**

ISOLAMENTO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS ORIUNDAS DE ESPÉCIES DE PIPER DA PARAÍBA ESTUDO FITOQUÍMICO DE *PIPER MOLLICOMUM* KUNTH (PIPERACEAE)

[Fernando Ferreira Leite](#)

[Bárbara Viviana de Oliveira Santos](#)

[Maria de Fátima Vanderlei de Souza](#)

[Maria de Fátima Agra](#)

[Hilzeth de Luna Freire Pessôa](#)

**DOI 10.22533/at.ed.41120260614**

**CAPÍTULO 15 ..... 171**

BIODIVERSIDADE DA FLORA E O POTENCIAL PRODUTIVO DE PRÓPOLIS NO OESTE DE SANTA CATARINA

[Cleidiane Vedoy Ferraz](#)

[Juciéli Chiamulera das Chagas](#)

[Elisangela Bini Dorigon](#)

**DOI 10.22533/at.ed.41120260615**

<b>CAPÍTULO 16</b> .....	<b>179</b>
INSIGHTS SOBRE OS POTENCIAIS BENEFÍCIOS DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE <i>Fragaria ananassa</i>	
Josué Guilherme Lisbôa Moura Patricia Soeiro Petroski Caroline Nascimento Bez Patrícia Weimer Taís da Silva Garcia Rochele Cassanta Rossi Letícia Lenz Sfair	
<b>DOI 10.22533/at.ed.41120260616</b>	
<b>CAPÍTULO 17</b> .....	<b>191</b>
INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS DA <i>AMBURANA CEARENSIS</i> (ALLEM.) A. C. SMITH: UMA REVISÃO	
Jéssica Bento Szepainski Sílvia Maria Ribeiro Dias Huderson Macedo de Sousa Geise Raquel Sousa Pinto Camila Vitória Pinto Teixeira Jovelina Rodrigues dos Santos Arrais Neta Maurício Almeida Cunha Camila Roberta Oliveira da Silva Luís Gustavo Ribeiro da Luz Brendon Mendonça Pinheiro Margareth Santos Costa Penha Georgette Carnib de Sousa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.41120260617</b>	
<b>SOBRE A ORGANIZADORA</b> .....	<b>203</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO</b> .....	<b>204</b>

## DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS À BASE DE COMPLEXO DE INCLUSÃO CONTENDO EFAVIRENZ

Data de aceite: 05/06/2020

### **Ilka do Nascimento Gomes Barbosa**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **José Lourenço de Freitas Neto**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Alinne Élide Gonçalves Alves Tabosa**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Stéfani Ferreira de Oliveira**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Victor de Albuquerque Wanderley Sales**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Williana Tôres Vilela**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Aline Silva Ferreira**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Arisa Dos Santos Ferreira**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Maria Clara Cavalcante Erhardt**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Lidiany da Paixão Siqueira**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Rosali Maria Ferreira da Silva**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

### **Pedro José Rolim Neto**

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

**RESUMO:** O vírus HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) afeta o sistema imune do hospedeiro levando a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. Cerca de 37,9 milhões no mundo vivem com HIV, onde aproximadamente 24,5 milhões tem acesso à terapia antirretroviral. O efavirenz é um dos fármacos disponíveis para o tratamento, porém possui baixa solubilidade aquosa. Isso acaba prejudicando a absorção,

tornado o fármaco menos biodisponível. Para minimizar essa limitação, a associação do efavirenz com beta-ciclodextrina possibilita incrementar a solubilidade, aumentando a eficácia clínica. A incorporação de um sistema binário em comprimidos orodispersíveis (COD) se transforma em uma alternativa terapêutica. A principal característica de um COD é a sua desintegração na cavidade oral em menos de 45 segundos, não necessitando a utilização de líquidos. O sistema binário foi obtido por coevaporação e caracterizado quanto a solubilidade, Calorimetria Exploratória Diferencial e Difratoimetria de Raios-X, que sugeriram a formação de complexo de inclusão, com um aumento de 118% na solubilidade, diminuição da intensidade energética e perda parcial da cristalinidade do efavirenz. Foi realizado planejamento quali-quantitativo de excipientes para as formulações. Os controles de qualidade dos lotes foram feitos conforme a Farmacopeias Brasileira e Americana. O lote que apresentou menor tempo de desintegração, com boa friabilidade e dureza foi o LB2. Além disso, um aumento significativo da velocidade de dissolução do efavirenz, tendo dissolvido mais de 83% o teor do fármaco em menos de 15 minutos. Com isso, os COD se tornam uma alternativa para o tratamento da SIDA, além de possuir uma fácil administração melhorando a adesão ao tratamento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Efavirenz; Ciclodextrina; Comprimido orodispersível.

## DEVELOPMENT OF TABLETS BASED ON INCLUSION COMPLEX CONTAINING EFAVIRENZ

**ABSTRACT:** The HIV (Human immunodeficiency virus) affects the host's immune system leading to Acquired Immunodeficiency Syndrome. About 37.9 million worldwide are living with HIV, where approximately 24.5 million have access to antiretroviral therapy. Efavirenz is one of the drugs available for treatment, however it has low aqueous solubility. This ends up impairing absorption, making the drug less bioavailable. To minimize this limitation, the combination of efavirenz with beta-cyclodextrin makes it possible to increase solubility, increasing clinical efficacy. The incorporation of a binary system in orodispersible tablets (COD) becomes a therapeutic alternative. The main characteristic of a COD is that it disintegrates in the oral cavity in less than 45 seconds, not requiring the use of liquids. The binary system was obtained by coevaporation and characterized in terms of solubility, differential scanning calorimetry and X-ray diffraction, which suggested the formation of an inclusion complex, with an increase of 118% in solubility, decreased energy intensity and partial loss of efavirenz crystallinity. Qualitative planning of excipients was carried out for the formulations. The batch quality controls were carried out in accordance with the Brazilian and American Pharmacopoeia. The batch with the shortest disintegration time, with good friability and hardness was LB2. In addition, a significant increase in the speed of dissolution of efavirenz, having dissolved more than 83% of the drug content in less than 15 minutes. Thus, CODs become an alternative for the treatment of AIDS, in addition to having an easy administration improving treatment adherence.

**KEYWORDS:** Efavirenz; Cyclodextrin; Orodispersible tablets.

## 1 | INTRODUÇÃO

O vírus HIV (*Human immunodeficiency vírus*) é um retrovírus pertencente à subfamília *Lentivirinae*. Suas consequências clínicas devem-se à sua capacidade de desarmar o sistema imune do hospedeiro, afetando e destruindo células específicas do sistema imunológico, conhecidas como células CD4+. Com isso, o organismo fica susceptível a infecções oportunistas, levando à Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA, em inglês AIDS) (LAURENCE, 2012; BRASIL, 2015).

Segundo estimativas feitas pelo UNAIDS, um Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS, com base nos dados fornecidos em 2019, cerca de 770.000 pessoas morrem devido às causas relacionadas à SIDA. O número de pessoas vivendo com HIV são de 37,9 milhões no mundo, destas 1,7 milhão são de crianças menores de 15 anos. Aproximadamente 24,5 milhões de pessoas com HIV tem acesso à terapia antirretroviral (UNAIDS, 2019).

A introdução da terapia antirretroviral combinada com outras drogas, que se deu a partir da década de 90, influenciou na redução da taxa de mortalidade e morbidade de pacientes infectadas pelo HIV. Isso se deve ao complexo esquema terapêutico existente, assegurando crescimento e desenvolvimento adequado, além preservar, melhorar ou reconstituir o funcionamento do sistema imunológico, reduzindo a ocorrência de infecções oportunistas (BRASIL, 2014; SANTOS, 2016).

Nesse sentido, a ampliação do acesso ao tratamento do HIV é essencial para pôr fim à epidemia. Estudos demonstram a eficácia da terapia antirretroviral na prevenção de novas infecções. Isso se deve ao seu duplo benefício: salvar a vida de pessoas que vivem com HIV e restringir a propagação do vírus, no qual a farmacoterapia é um dos pilares de uma resposta eficaz (KARIM, 2011; COSTA et al., 2018).

O arsenal terapêutico antirretroviral é composto atualmente por 23 fármacos licenciados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) para uso clínico. Dentre os diversos fármacos disponíveis para terapia anti-HIV, temos o Efavirenz (EFZ), que é um inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeos (ITRNN), como terapia de primeira linha em associação com dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRNs), que são a zidovudina e a lamivudina (BASTOS et al., 2016; CAVALCANTE et al., 2017).

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), o EFZ é um fármaco classe II (baixa solubilidade e permeabilidade elevada), que apresenta uma baixa absorção gastrointestinal, devido a sua solubilidade inadequada nos fluidos gastrointestinais, e uma alta permeabilidade. Além disso, a biodisponibilidade oral do fármaco é entre 40% e 45% (FANDARUFF et al., 2015; MARQUES et al., 2017).

Dessa forma, uma das maneiras de minimizar estas limitações físico-químicas apresentadas pelo EFZ é a complexação com ciclodextrinas (CD). As CD são oligossacáridos cíclicos formados por moléculas de D-glicose. Possuem um interior hidrófobo, o qual pode acomodar fármacos lipofílicos, e exterior hidrofílico, promovendo uma maior interação com o meio aquoso uma vez que possui hidroxilas livres. Esse arranjo estrutural possibilita a utilização de substâncias para a formação de complexo de inclusão (UEKAMA, 2004; VIEIRA et al., 2015).

A associação de beta-ciclodextrina ( $\beta$ CD) com o EFZ, um fármaco de baixa solubilidade, permite incrementar a solubilidade do fármaco e, conseqüentemente, aumentar a eficácia clínica do medicamento (VIEIRA et al., 2015).

Recentes resultados mostram a eficácia do uso em crianças do efavirenz em associação com um ou dois ITRN. Com isso, formulações à base de EFZ estão sendo propostas como alternativa para o tratamento de pacientes pediátricos (LARRU et al., 2014). Assim, será obtido sistema binário de EFZ com ciclodextrina e posteriormente incorporação em comprimidos orodispersíveis (COD).

COD é uma forma farmacêutica sólida que tem rápida desintegração na cavidade oral sem necessidade de administração concomitante com água. Possui fácil administração em pacientes pediátricos e é preferível devido à fácil deglutição, melhorando a adesão ao tratamento. Estudos mostram que COD aumentam a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis, uma vez que tem desintegração rápida acelerando a disponibilidade do fármaco no sítio de ação (SLAVKOVA E BREITKREUTZ, 2015).

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Obtenção da mistura física (MF)

O efavirenz (EFZ) e a beta-ciclodextrina ( $\beta$ CD) foram pesadas em quantidades estequiométricas de 1:1 (mol:mol) e homogeneizados em almofariz de porcelana com o auxílio de um pistilo, através do método de diluição geométrica. Posteriormente, uniformizou-se o material em tamis com abertura de 250  $\mu$ m.

### 2.2 Obtenção de sistemas binários por co-evaporação (COE)

Quantidades estequiométricas de 1:1 (mol:mol) do EFZ e  $\beta$ CD foram pesadas e solubilizadas em solução hidroalcoólica 1:1 (v/v) separadamente sob agitação mecânica. Após completa solubilização dos compostos, as soluções foram vertidas e deixadas em agitação oscilante por 24 horas, antes de serem submetidas à evaporação sob pressão reduzida ( $-800 \pm 20$  mbar) a uma temperatura de  $50 \pm 5^\circ\text{C}$  em rotaevaporador. Após a evaporação dos solventes, o material foi colocado em estufa com circulação de ar à  $60^\circ\text{C}$  por 3h. Já seco, uniformizou-se o material em tamis com abertura de 250  $\mu$ m.



## 2.3 Caracterização

### 2.3.1 Ensaio de solubilidade

A solubilidade foi determinada adicionando excesso de EFZ e dos complexos de inclusão em 10 mL de água em tubos de ensaio com tampa de borracha e mantidos sob agitação com movimentos recíprocos por 48 horas, com velocidade de 150 rpm e temperatura de 37 °C em banho-maria. Após o período de agitação, as amostras foram diluídas na proporção de 1:10 e quantificadas através do espectrofotômetro-UV-vis no comprimento de onda de 247 nm.

### 2.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidos em calorímetro com atmosfera de nitrogênio com um fluxo de 50 mL.min<sup>-1</sup> e razão de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup>, numa faixa de temperatura de 20°C a 350°C. O material foi colocado em porta-amostra de alumínio hermeticamente fechadas com massa de 2 mg ± 0,2.

### 2.3.3 Difractometria de Raio- X (DRX)

Os padrões de DRX foram obtidos no difratômetro equipado com ânodo de cobre. As amostras foram analisadas no intervalo de ângulo de 3-50° a uma velocidade de digitalização de 0,02° por segundo e preparadas em suportes de vidro com uma fina camada de amostra.

## 2.4 Planejamento qualitativo da formulação

O planejamento das formulações teve como referência o Handbook de excipientes para a escolha das melhores proporções de adjuvantes farmacêuticos. Foram desenvolvidos três lotes de bancadas com comprimidos orodispersíveis (COD) contendo 50mg de efavirenz, no qual se variou a proporção de desintegrantes, conforme tabela 1.

O sistema binário, o desintegrante e o manitol foram pesados e adequadamente misturados em conjunto em um misturador em “V” de bancada. Posteriormente, o estearato de magnésio e o talco foram pesados, adicionados à mistura e homogeneizado por mais 10 minutos. O pó foi comprimido numa compressora rotativa, utilizando uma punção bicôncava circular.



Formulação	Lote A	Lote B	Lote C
<b>Sistema multicomponente</b>	45, 95%	45, 95%	45, 95%
<b>Celulose microcristalina</b>	17,05%	17,05%	17,05%
<b>Manitol</b>	22%	22%	22%
<b>Croscarmelose</b>	10%	-----	-----
<b>Crospovidona</b>	-----	10%	-----
<b>Glicolato de amido sódico</b>	-----	-----	10%
<b>Estearato de magnésio</b>	3%	3%	3%
<b>Talco</b>	2%	2%	2%
	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>

Tabela 1: Excipientes para obtenção de lotes de comprimidos orodispersíveis.

## 2.5 Planejamento quantitativo

Após a escolha do melhor desintegrante, a partir do planejamento qualitativo, as formulações foram desenvolvidas compostas por diferentes concentrações de desintegrantes (10% e 15%) e de manitol (12%, 13% e 14%). As diferentes proporções do superdesintegrante foram destinadas a avaliar a eficácia da desintegração no comprimido orodispersível (COD). O percentual do sistema binário, estearato de magnésio e talco da formulação foram mantidos constante em todos dos lotes desenvolvidos, já a proporção de celulose microcristalina foi a quantidade suficiente para 100 % da formulação, conforme Tabela 2.

Formulação	Lote de Bancada (LB) 1	Lote de Bancada (LB) 2	Lote de Bancada (LB) 3
<b>Sistema multicomponente</b>	231,5 mg	231,5 mg	231,5 mg
<b>Celulose microcristalina</b>	133,5 mg	143,5 mg	113,5 mg
<b>Manitol</b>	70 mg	60 mg	65 mg
<b>Crospovidona</b>	50 mg	50 mg	75 mg
<b>Estearato de magnésio</b>	10 mg	10 mg	10 mg
<b>Talco</b>	5 mg	5 mg	5 mg

Tabela 2: Formulação para obtenção de comprimidos orodispersíveis

## 2.6 Controle de qualidade

Os controles de qualidade físico-químicos dos lotes de bancadas desenvolvidos foram realizados de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição e Farmacopeia Americana 37<sup>th</sup> edição.

### 2.6.1 Peso médio

Foram pesados 20 comprimidos orodispersíveis individualmente em uma balança analítica e determinou o peso médio de cada lote. Pode-se tolerar não mais que 2 das 20 unidades pesadas fora dos limites de variação ( $\pm 5,0\%$  para comprimidos com 250 mg ou mais) e nenhuma unidade pode ter o dobro dos valores da faixa de variação (BRASIL, 2010).

### 2.6.2 Dureza

Foram colocados 10 comprimidos no durômetro, individualmente, retirando qualquer resíduo superficial. Ao fim do teste, foi calculada a dureza média de cada lote (BRASIL, 2010).

### 2.6.3 Friabilidade

Foram pesados 20 comprimidos de cada lote e colocados no friabilômetro a 100 rotações. Ao fim, foram removidos os resíduos superficiais e pesados novamente. Aplicaram-se os valores na fórmula:  $Friabilidade = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$ , em que  $P_i$  = peso inicial e  $P_f$  = peso final. A variação de peso não podia ultrapassar 1,5% de perda (BRASIL, 2010).

### 2.6.4 Desintegração

Foram analisados 6 comprimidos de cada lote em meio aquoso, a 37°C. Cada comprimido foi colocado em um dos tubos da cesta do aparelho. Observou-se o tempo em que o último comprimido se desintegra (USP, 2014).

### 2.6.5. Dissolução

O ensaio de dissolução ocorreu a uma velocidade de 100 rpm, com aparato 2 (pá), em uma temperatura de 37°C  $\pm 0,5$ . Utilizaram-se 900 mL de lauril sulfato de sódio a 1% como meio de dissolução. O tempo de duração foi de 60 minutos e era retirado uma alíquota de 3 mL nos tempos de 5, 15, 30, 45 e 60 minutos após o início do teste. Após cada coleta, era feita a reposição do meio de cada cuba. De cada alíquota, era retirado 1 mL, e diluída com o meio de dissolução em balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, analisadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 247nm.

### 2.6.6 Teor

Para quantificação do efavirenz na formulação, foram pesados e pulverizados 20 comprimidos. Transferiu-se a quantidade equivalente a 0.0125g de efavirenz para balão

volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 70 mL de etanol absoluto. Deixou-se em ultrassom por 5 minutos, e completou-se o volume. A solução padrão foi nas mesmas condições, e as absorbâncias das soluções foram medidas a 247nm, utilizando etanol absoluto para ajuste do zero (BRASIL, 2010).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Ensaio de solubilidade

De acordo com os resultados do ensaio de solubilidade aquosa, representados na figura 1, foi possível verificar o efeito positivo das  $\beta$ CD no que tange ao incremento de solubilidade do fármaco, tanto na forma de mistura física, quanto na forma supostamente complexada. Pode-se observar um incremento de solubilidade de 50% na mistura física e de 118% na obtenção por coevaporação em relação ao EFZ isolado.

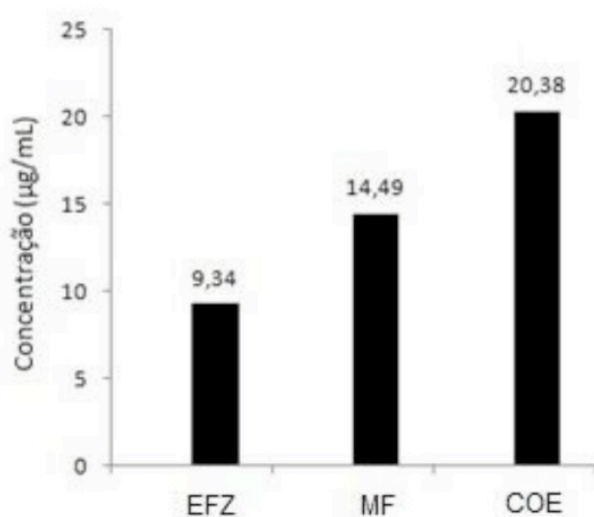


Figura 1: Solubilidade em água (µg/mL) do efavirenz (EFZ), mistura física (MF) e sistema binário por coevaporação (COE).

O aumento da solubilidade do efavirenz pode ter sido promovido pela complexação com a  $\beta$ CD. Isso ocorre devido à presença de hidroxilas livres na parte externa da ciclodextrina, conferindo a essas moléculas, um caráter hidrofílico, permitindo a dissolução em meio aquoso de compostos de baixa solubilidade (MELO et al.; 2013).

#### 3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A curva DSC (figura 2) obtida para o EFZ apresenta um pico endotérmico em aproximadamente 139,1°C correspondente ao ponto de fusão do fármaco. Esse pico é seguido por outro endotérmico em aproximadamente 186°C, que está associado à termod decomposição do fármaco. O resultado sugere que o EFZ se encontra na forma

cristalina mais termodinamicamente estável, forma I, com faixa de fusão foi de 138° - 140°C (RADESCA et al., 1999).

A curva DSC da  $\beta$ CD apresenta fenômenos endotérmicos alargados em torno de 100°C e 300°C, referentes à perda de água da cavidade da ciclodextrina e termodecomposição do composto, respectivamente. Estes dados estão de acordo com os relatados na literatura (WANG, 2014).

O perfil térmico da mistura física apresenta um somatório dos eventos encontrados nos termogramas dos compostos isolados, com um pico de fusão do EFZ bem definido e picos referentes aos fenômenos de desidratação e decomposição da  $\beta$ CD, sugerindo que não há formação de complexos de inclusão estáveis nestes sistemas binários, uma vez que o fármaco manteve a sua cristalinidade original.

Os eventos encontrados nos termogramas do sistema binário obtido por co- evaporação, observa-se uma expressiva diminuição da intensidade energética desprendida no processo de fusão do efavirenz. Essa mudança pode indicar a existência de fortes interações intermoleculares, envolvendo o efavirenz e a  $\beta$ CD, sugerindo uma redução do estado cristalino do EFZ, com possível formação do complexo de inclusão. Isso pode ser confirmado com o estudo de solubilidade, onde se observa um aumento significativo na solubilidade do fármaco, quando comparado com o fármaco isolado.

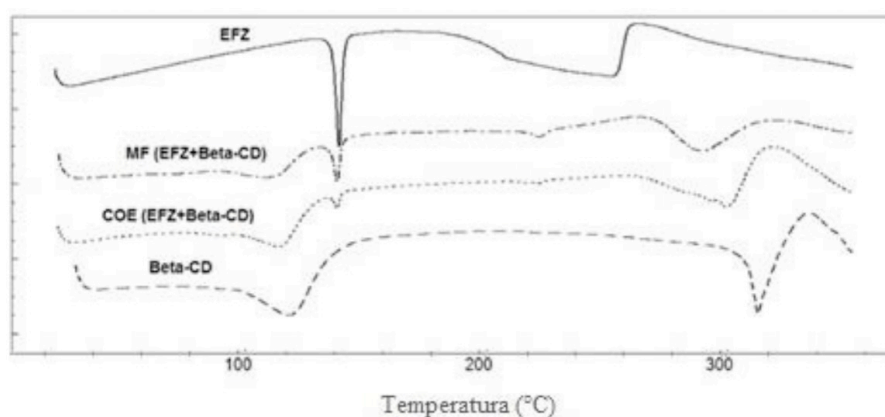


Figura 2: Curvas DSC para o efavirenz (EFZ), beta- ciclodextrina ( $\beta$ CD), mistura física (MF) e sistema binário por co- evaporação (COE).

### 3.3 Difractometria de Raios- X (DRX)

A formação de complexos de inclusão no estado sólido está frequentemente associada ao aumento do grau de amorfização das substâncias envolvidas. Nos difratogramas (figur 3), puderam ser observadas diferenças significativas nas posições e intensidades dos principais picos dos compostos, com possibilidade de desaparecimento ou diminuição da intensidade de alguns dos picos característicos (RIBEIRO et al., 2003; CORDEIRO et al., 2017).

O perfil difratográfico do EFZ põe em evidência o seu caráter cristalino, apresentando uma série de picos de difração de elevada intensidade e definição com pico principal de  $6.16^\circ$  ( $2\theta$ ) e picos secundários em  $14.34^\circ$ ,  $17.08^\circ$ ,  $20.3^\circ$ ,  $21.36^\circ$  e  $25.06^\circ$  ( $2\theta$ ). O difratograma da  $\beta$ CD revelou também o seu caráter cristalino, com picos de difração mais importantes em  $7.31^\circ$ ,  $10.39^\circ$ ,  $12.39^\circ$ ,  $14.59^\circ$ ,  $17.91^\circ$ ,  $21.84^\circ$  e  $22.84^\circ$  ( $2\theta$ ) (VIEIRA et al., 2015).

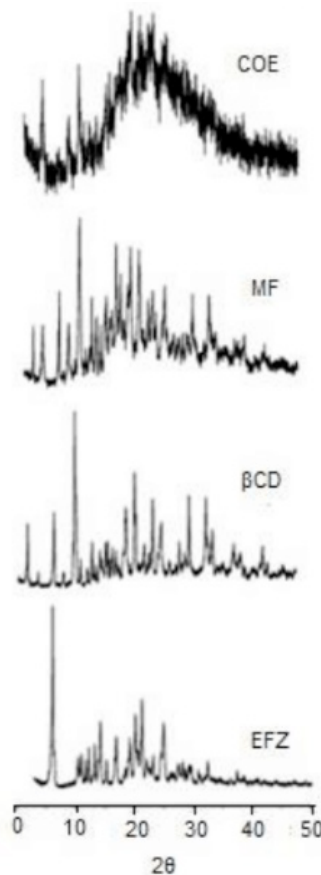


Figura 3: Difratograma de Raios-X do efavirenz (EFZ), beta-ciclodextrina ( $\beta$ CD), mistura física (MF) e sistemas binários obtidos por co-evaporação (COE).

A comparação dos perfis de difração dos componentes isolados com suas misturas físicas demonstrou que não ocorreu a formação de uma nova estrutura, sendo indicada pela sobreposição dos difratogramas.

O sistema binário obtido por co-evaporação apresentou padrões de difração muito semelhante ao da mistura física. As intensidades do pico principal do efavirenz foram significativamente diminuídas, sugerindo uma perda parcial da cristalinidade do fármaco influenciada pelo processo de obtenção dos complexos. Isso implica em um aumento do grau de amorfização do sistema, levando a uma maior solubilidade do fármaco.

Para fármacos cristalinos e com pouca solubilidade aquosa, a formação do complexo estabiliza o fármaco na fase amorfa, sendo que o alto estado energético da fase amorfa geralmente leva a um aumento significativo da solubilidade e, conseqüentemente, aumenta a biodisponibilidade do fármaco. Dessa forma, os resultados obtidos na DRX evidenciam

a formação do complexo (KAUSHAL, 2004).

### 3.4 Planejamento qualitativo e qualitativo

De acordo com os resultados obtidos no teste de desintegração, pode-se selecionar o melhor superdesintegrante com base no menor tempo de desintegração. Sendo assim, a crospovidona foi a selecionada devido a desintegrar o comprimido em 22s, o menor tempo entre os outros desintegrantes, e atender as especificações da Farmacopeia Americana (USP, 2014) para comprimidos orodispersíveis.

Tipo de desintegrante	Tempo de desintegração
Lote A- Croscarmelose	1 minuto e 40 segundos
Lote B- Crospovidona	22 segundos
Lote C- Glicolato de amido sódico	50 segundos

Tabela 3: Tempo de desintegração dos lotes utilizando superdesintegrantes diferentes.

Durante o processo de compressão, o controle da força de compressão (FC) mostrou-se a etapa mais crítica do processo. Isso porque, caso aumentasse a FC os COD obteriam bons resultados de dureza e friabilidade, no entanto, reprovavam no teste de desintegração. De forma contrária, com a redução da FC, os COD eram aprovados no teste de desintegração, mas reprovavam na friabilidade. Essas dificuldades foram superadas com variações na proporção de manitol e crospovidona, até a obtenção da formulação ideal.

### 3.5 Controle qualidade

Os resultados das análises do controle de qualidade, aplicado ao produto desenvolvido, seguiram as recomendações gerais da Farmacopeia Brasileira 5ª edição e Farmacopéia Americana 37ª edição, conforme a tabela 4.

Parâmetros	Especificações	LB1	LB2	LB3
Peso Médio (mg) <sup>a</sup>	500 mg ± 5%	520,50	502,40	507,50
Dureza (N) <sup>a</sup>	Informativo	3,85	2,52	3,05
Friabilidade (%) <sup>a</sup>	< 1,5%	0,37	0,43	Reprovado
Desintegração (s) <sup>b</sup>	< 45	36	15	22
Teor (%) <sup>a</sup>	90-110	98,70	99,50	96,00

Tabela 4: Controle físico-químico dos comprimidos orodispersíveis desenvolvidos

<sup>a</sup> Especificações de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

<sup>b</sup> Especificações de acordo com a Farmacopeia Americana (USP) 37ª edição.

No que se refere ao peso médio, todos os lotes estão dentro das especificações. No entanto, observa-se que o lote LB1 encontra-se com uma variação de peso maior que os outros lotes desenvolvidos. Sugere-se que seja devido à maior proporção de manitol, que possui um fluxo pobre prejudicando a manipulação

Em relação aos testes de resistência mecânica, dureza e friabilidade, pode-se observar que o lote LB3 foi reprovado na friabilidade, tendo em vista que um comprimido se partiu ao meio. Isso pode ter acontecido devido à redução no percentual de celulose microcristalina, que é capaz de melhorar a compressibilidade de comprimidos reduzindo a perda de massa (DOELKER, 1993; ZANG et al., 2003).

A desintegração é um dos parâmetros mais críticos no desenvolvimento de comprimidos orodispersíveis, tendo em vista que o comprimido deve se desintegrar em até 45s. Os resultados dos tempos de desintegração demonstram que todos os comprimidos atenderam as especificações da Farmacopeia Americana.

O teor de efavirenz calculado determinou que todos os lotes estão dentro das especificações preconizadas pelo compêndio oficial. As análises foram realizadas segundo a equação da reta obtida ( $y = 0,1026x + 0,0014$ ) com coeficiente de correlação linear = 0,9994 (BRASIL, 2014).

### 3.5.1 Dissolução

A figura 4 mostra o perfil de dissolução da formulação LB2, o lote com o melhor resultado no controle de qualidade. Observa-se o aumento significativo da velocidade de dissolução do efavirenz, que pode ser atribuído à formulação orodispersível, ao sistema EFZ:  $\beta$ CD, à diminuição da tensão superficial devido às propriedades molhantes da  $\beta$ -ciclodextrina e a redução da cristalinidade do composto, obtido pela técnica de coevaporação.

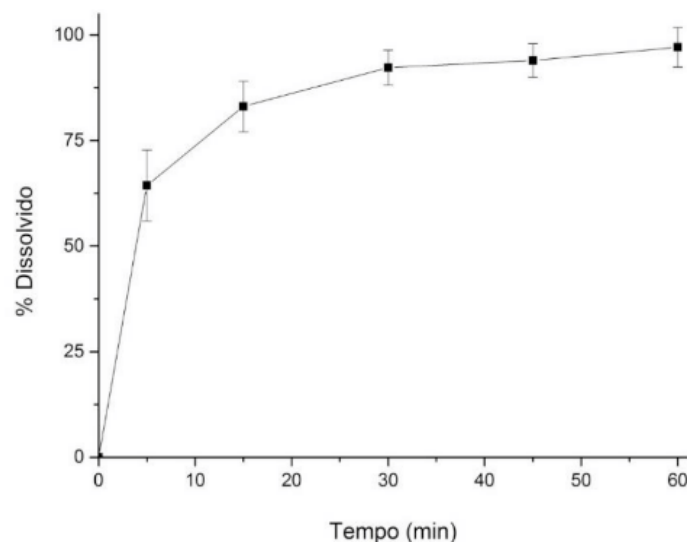


Figura 4: Perfil de dissolução do comprimido orodispersível (COD).

Em menos de 15 minutos, o teor de fármaco dissolvido alcançou mais de 83%, podendo esta formulação ser considerada de liberação “flash” (instantânea) para fármacos de alta solubilidade em água, que foi incrementada pela obtenção do sistema binário.

## 4 | CONCLUSÃO

Através dos estudos de caracterização, pode-se sugerir a formação de um complexo de inclusão com O efavirenz e a beta-ciclodextrina, no qual apresentou um incremento na solubilidade de 118% em relação ao efavirenz sozinho. Em relação ao comprimido orodispersível, pode-se concluir que o lote que apresentou menor tempo de desintegração, com boa friabilidade e dureza foi o LB2. Essa forma farmacêutica é uma boa alternativa na terapia antirretroviral na qual proporcionará várias vantagens aos pacientes, principalmente os pediátricos, à medida que a forma farmacêutica desintegra-se rapidamente na boca (< 45 s), e não necessita de água para administração, o que melhora a adesão do paciente ao tratamento.

## REFERÊNCIAS

BASTOS, M. M. et al. Efavirenz a nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor of first generation: Approaches based on its medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 108, p. 455-465, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST/ Aids. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes**. Brasília, 2014. Disponível em: <[http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2014/55939/19\\_06\\_2015\\_protocolo\\_pediatico\\_pdf\\_25296.pdf](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2014/55939/19_06_2015_protocolo_pediatico_pdf_25296.pdf)>. Acesso em: 20 mar. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Cuidado integral as pessoas que vivem com HIV pela atenção básica**, manual para equipe multiprofissional Brasília, DF, 2015.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira 5ª. ed.**, v. 1: Métodos Gerais, 545 p., 2010.

CAVALCANTE, G. I. T. et al. HIV antiretroviral drug Efavirenz induces anxiety-like and depression-like behavior in rats: evaluation of neurotransmitter alterations in the striatum. **European Journal of Pharmacology**, v. 799, p. 7-15, 2017.

COSTA, J. O. et al. Efetividade da terapia antirretroviral na era de medicamentos em dose fixa combinada. **Revista de Saúde Pública**, v. 52, n. 87, p. 1-13, 2018.

CHIAPPETTA, D.A.; ALVAREZ-LORENZO, C.; REY-RICO, A.; TABOADA, P. CONCHEIRO, A. Sosnik, N-alkylation of poloxamines modulates micellar assembly and encapsulation and release of the antiretroviral efavirenz. **European Journal Pharmaceutical Biopharmacy**, v. 76, p. 24–37, 2010.

CORDEIRO, M. S. F.; DA SILVA, C. M. B.; VIEIRA, A. C. Q.; NADVORNY, D.; NUNES, L. C.; DA SILVA-FILHO, E. C.; ROLIM-NETO, P. J.; VEIGA, F. B.; RIBEIRO, A. J.; DE LA ROCA SOARES, MÔNICA F.;



SOARES-SOBRINHO, J. L. Biopolymers and pilocarpine interaction study for use in drug delivery systems (DDS). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, p. 1777-1785, 2017.

DOELKER, E. Comparative compaction properties of various microcrystalline cellulose types and generic products. **Drug Development and Industrial Pharmacy** v. 19, p. 2399-2471, 1993.

FANDARUFF, C. et al. Correlation between microstructure and bioequivalence in Anti-HIV Drug Efavirenz. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 91, p. 52-58, 2015.

KARIM, S.A.S.; KARIM, Q.A. Antiretroviral prophylaxis: a defining moment in hiv control. **LANCET**, v. 378, p. E23–E25, 2011.

KAUSHAL, A.M. et al. Amorphous drug delivery system: molecular aspects, design and performance. **Critical Reviews Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 21, p. 133-193, 2004.

LARRU, B.; EBY, J.; LOWENTHAL, E.D. Antiretroviral treatment in HIV-1 infected pediatric patients: focus on efavirenz. **Pediatric Health, medicine and therapeutics**, v. 5, p. 29-42, 2014.

LAURENCE, L. B. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman**. 12ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2012. 2112 p.

MARQUES, M. M. et al. New solid forms of efavirenz: Synthesis, vibrational spectroscopy and quantum chemical calculations. **Journal of Molecular Structure**, v. 1137, p. 476-484, 2017.

MELO, P. N.; BARBOSA, E. G.; CALAND, L. B.; CARPEGIANNI, H.; GARNERO, C.; LONGHI, M.; FERNANDES-PEDROSA, M. F.; SILVA-JÚNIOR, A. A. Host–guest interactions between benzimidazole and beta-cyclodextrin in multicomponent complex systems involving hydrophilic polymers and triethanolamine in aqueous solution. **J. Mol. Liq.**; v.186, p. 147–156, 2013.

RADESCA, L. A.; MAURIN, M. B.; RABEL, S. R.; MOORE, J. R. Crystalline efavirenz. **WO1999064405**. 1999. Disponível em: <[https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?jsessionid=EF85801FF8F061E62AE3AD1550A7B9E4.nCgfg%3DICF\\_M%3A%22C07D%22%26fq%3DDP%3A1999&sortOption=Pub+Date+Desc&maxRec=1571](https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?jsessionid=EF85801FF8F061E62AE3AD1550A7B9E4.nCgfg%3DICF_M%3A%22C07D%22%26fq%3DDP%3A1999&sortOption=Pub+Date+Desc&maxRec=1571)>. Acesso em: 20 mar. 2020.

RIBEIRO, L., LOFTSSON, T., FERREIRA, D.; VEIGA, F.. Investigation and Physicochemical Characterization of Vinpocetine-Sulfobutyl ether b-cyclodextrin binary and ternary complexes. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v.51, n.8, p.914-922. 2003.

SANTOS, E. I. et al. Evidências científicas brasileiras sobre adesão à terapia antirretroviral por pessoas que vivem com HIV/AIDS. **Revista Eletrônica Gestão & Saúde**, v. 7, n. 1, p. 454-470, 2016.

SLAVKOVA, M.; BRITKREUTZ, J. Orodispersible drug formulations for children and elderly. **European Journal Pharmaceutical Science**, v. 75, p. 2-9, 2015.

UEKAMA, K. Design and evolution of cyclodextrin-based drug formulation. **Chempharm Bull**, v. 52, n. 8, p. 900-915, 2004.

UNAIDS. **Estatísticas globais sobre HIV 2019**. 2019. Disponível em: < [https://unaids.org.br/estatisticas/?gclid=Cj0KCQjwmdzzBRC7ARIsANdqRRISyJj3WlbfIynQd-qOG1zKnqcubx8H3AJ-K4ygrIbK\\_EcjfwkeuKlaAsUGEALw\\_wcB](https://unaids.org.br/estatisticas/?gclid=Cj0KCQjwmdzzBRC7ARIsANdqRRISyJj3WlbfIynQd-qOG1zKnqcubx8H3AJ-K4ygrIbK_EcjfwkeuKlaAsUGEALw_wcB) >. Acesso em: 20 mar. 2020.

USP. **United States Pharmacopeia 37<sup>th</sup> edição**. 2014.

VIEIRA, A. C. C.; FONTES, D. A. F.; CHAVES, L. L.; ALVES, L. D. S.; FREITAS NETO, J. L.; SOARES, M. F. R.; SOARES SOBRINHO, J. L.; ROLIM, L. A.; ROLIM-NETO, P. J. Multicomponent systems with cyclodextrins

and hydrophilic polymers for the delivery of Efavirenz. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 133-140, 2015.

WANG, X.; LUO, Z.; XIAO, Z. Preparation, characterization, and thermal stability of b-cyclodextrin soybean lecithin inclusion complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 1027- 1032, 2014.

ZHANG, Y.; LAW, Y.; CHAKRABARTIL, S. Physical Properties and Compact Analysis of Commonly used Direct Compression Binders. *AAPS Pharmaceutical Sciences and Technology*, v. 4, p. 14-25, 2003.

## ANÁLISE DE COMPRIMIDOS NÃO REVESTIDOS DE DIPIRONA ARMAZENADOS EM DIFERENTES LOCAIS DOMÉSTICOS

*Data de aceite: 05/06/2020*

*Data de submissão: 15/05/2020*

### **Selma Mendes da Silva Moratore**

Universidade Paulista, Curso de Farmácia

São José dos Campos – São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/1114461609130250>

### **Viviane Gadret Bório Conceição**

Universidade Paulista, Curso de Farmácia

São José dos Campos – São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/6958446288431622>

**RESUMO:** O armazenamento correto de medicamentos é fundamental para manter a sua estabilidade por todo prazo de validade, visto que, se indevidamente armazenado, o fármaco pode perder a sua potência e a sua eficácia, prejudicando o tratamento. Inúmeras pessoas deixam os remédios em locais inadequados, como no carro, em contato com altas temperaturas e choques mecânicos. A embalagem e local de armazenamento das espécies farmacêuticas são especificados na Farmacopeia Brasileira, que, em geral, define o uso de recipientes bem fechados e protegidos da luz. Tal preocupação faz parte da assistência farmacêutica que objetiva assegurar a efetividade

do tratamento dos pacientes. Neste intuito, o presente trabalho visa analisar comprimidos não revestidos de dipirona 500mg (genérico), um medicamento analgésico largamente utilizado, armazenando-o sob diferentes locais domiciliares, por 45 dias. Os locais escolhidos foram: interior do carro, banheiro e em cima do forno microondas. Realizou-se testes físicos, quantitativos e qualitativos, sendo eles: peso médio, propriedades organolépticas (aparência geral, odor e cor), dureza e friabilidade. Utilizou-se alguns comprimidos para controle, mantendo-os nos lugares indicados na bula. Verificou-se algumas alterações no resultado de Peso médio, bem como nos testes organolépticos, havendo alteração da cor dos comprimidos. Quanto à análise da dureza dos comprimidos, os que apresentaram maior alteração foram aqueles armazenados no carro, que não se romperam com máxima aplicação de força. No teste de Altura e Diâmetro, os comprimidos que estavam armazenados no banheiro, fora do blister, mostraram-se mais alterados do que os mantidos no invólucro original. Concluiu-se, assim, que os medicamentos armazenados inadequadamente podem comprometer a eficácia, e, até mesmo, causar malefícios ao usuário, ao apresentarem sinais de endurecimento, indicando a não possibilidade

de desagregação para que o fármaco possa ser absorvido.

**PALAVRAS-CHAVE:** Armazenamento, dipirona, umidade, luz.

## ANALYSIS OF NON-COATED DIPYRONE TABLETS STORED IN DIFFERENT DOMESTIC LOCATIONS

**ABSTRACT:** The correct storage of medications is essential to maintain its stability for the entire period of validity, since, if improperly stored, the drug can lose its potency and its effectiveness, impairing the treatment. Countless people leave medicines in inappropriate places, such as in the car, in contact with high temperatures and mechanical shocks. The packaging and storage location of the pharmaceutical species are specified in the Brazilian Pharmacopeia, which, in general, defines the use of well-closed containers, protected from light. Such concern is part of pharmaceutical assistance that aims to ensure the effectiveness of the treatment of patients. To this end, the present study aims to analyze 500mg dipyrone-coated tablets (generic), a widely used analgesic drug, storing it under different home locations for 45 days. The chosen places were: inside the car, bathroom and on top of the microwave oven. Physical, quantitative and qualitative tests were carried out, namely: average weight, organoleptic properties (general appearance, odor and color), hardness and friability. Some control pills were used, keeping them in the places indicated on the package insert. There were some changes in the average weight result, as well as in the organoleptic tests, with a change in the color of the pills. As for the analysis of the hardness of the tablets, those that showed the greatest change were those stored in the car, which did not break with maximum force application. In the Height and Diameter test, the pills that were stored in the bathroom, outside the blister, were more altered than those kept in the original wrapper. It was concluded, therefore, that improperly stored drugs can compromise efficacy, and even cause harm to the user, by showing signs of hardening, indicating the possibility of disaggregation so that the drug can be absorbed.

**KEYWORDS:** Storage, dipyrone, moisture, light.

### 1 | INTRODUÇÃO

A dipirona é o analgésico mais prescrito no Brasil, sendo um anti-inflamatório não Esteroidal (AINE) indicado para controle da dor de intensidade leve à moderada. O mecanismo de ação dos analgésicos baseia-se na inibição da síntese de prostaglandinas, responsáveis pela dor, pela vasodilatação local e pelo aumento da permeabilidade vascular (QUEIROZ, 2013; SALLUM, 2012), a fim de reverter os sinais e sintomas decorrentes desses efeitos.

A dipirona é apresentada em diversas formas farmacêuticas, sendo uma delas, os comprimidos (BULÁRIO ELETRÔNICO ANVISA, 2013). Além disso, já se encontra disponível como um medicamento genérico, sendo produzido após a quebra da patente

do medicamento referência, cumprindo as exigências da Lei dos Genéricos (*Lei número 9.787/1999*; BORGONOV, 2019) que obriga os fabricantes a apresentarem testes de bioequivalência e biodisponibilidade para que possam ser intercambiáveis pelo referência (ROBLEDO, 2016).

Todos os medicamentos, enfatizando aqui os comprimidos de dipirona não revestidos, devem ser armazenados e transportados de forma controlada. Recomenda-se guardar o medicamento em temperatura ambiente (15/30°C), proteger da luz e umidade, sendo que o prazo de validade estimado a partir da data de fabricação, será válido desde que sejam mantidas as condições de armazenagem indicadas, para que assim se mantenha a estabilidade do(s) fármaco(s) (SILVA K.E.R., 2009).

Conforme Resolução da Anvisa - RDC 44/09, as farmácias e drogarias, devem ser adaptadas com uma infraestrutura compatível com as atividades a serem desenvolvidas, e ambientes específicos para tais atividades, sendo uma delas, o armazenamento (ANVISA, 2019). Os medicamentos devem estar armazenados, em lugares específicos com condições controladas.

O armazenamento e a distribuição são fases da logística dos medicamentos, que visam assegurar a qualidade dos mesmos por meio de condições adequadas e pré definida (PINTO, 2016).

A literatura direcionada ao armazenamento, corrobora que uma boa estocagem contribui para a efetividade, segurança e qualidade de um produto farmacêutico (LUCCAS, 2017).

Pode-se acrescentar ainda, que os medicamentos armazenados indevidamente sofrem efeitos na ação biológica dos fármacos, de intensidade menor ou maior, podendo resultar em danos ao organismo, anulando a resposta biológica esperada (Diretoria Geral de Assistência Farmacêutica, 2015).

Tais efeitos decorrentes do armazenamento, podem ser verificados através de testes físicos, químicos e microbiológicos. A Farmacopeia Brasileira preconiza os ensaios oficiais que avaliam as propriedades do medicamento, como sendo os seguintes: ensaios organolépticos, peso médio, dureza, friabilidade, diâmetro e altura, tendo seus valores de referência especificados (FB, 6 ed. vol.2 Monografia)

Assim sendo, o objetivo desse estudo foi verificar, através de análises físico-químicas, se comprimidos não revestidos de dipirona 500 mg, genéricos, sofreriam alterações após armazenados em determinados locais, como: em cima do microondas, no banheiro e no carro, por exatos 45 dias.

## 2 | METODOLOGIA

Foram adquiridos 70 comprimidos não revestidos de dipirona 500mg em drogaria local, e, após o tempo de armazenamento, foram executados os testes no laboratório de

controle de qualidade da Universidade Paulista, campus Dutra-SJC.

Utilizou-se os seguintes equipamentos:

- Balança analítica (GEHAKA, modelo AG 200);
- Friabilômetro (Nova Ética, Modelo 300);
- Durômetro (Nova Ética);
- Paquímetro (Digimes)

## 2.1 Descrição do método

Após o referido período de 45 dias, foram realizados os testes conforme as indicações do compêndio oficial: Formulário Nacional da Farmacopeia Brasil (Vol.2).

Cabe relatar que, durante este período, os medicamentos estiveram submetidos a condições relativamente comuns no cotidiano de um paciente. E, além desses, foram mantidos outros comprimidos de mesmo lote, na embalagem original, estocados em prateleira de drogaria, conforme definido pelo fabricante. Este último grupo foi considerado controle.

Ressalta-se ainda que, de todos os comprimidos submetidos aos locais domésticos de armazenagem, 50% foram mantidos no blister original e 50% foram retirados desta embalagem primária original.

### 2.1.1 Ensaio Organolépticos:

Nessa primeira etapa, foram analisados a textura, a uniformidade de cor, deformações e odor dos comprimidos analisados. Comparou-se os resultados com os comprimidos controle.

### 2.1.2 Peso Médio:

Foi avaliada a uniformidade de dose dos comprimidos utilizando-se balanças de sensibilidade apropriada. Para a realização deste ensaio foram pesados, individualmente, 10 comprimidos (Figura 1), e calculou-se a média através da divisão da somatória dos pesos individuais pelo número de amostras. Determinou-se ainda o Desvio Padrão e o Desvio padrão relativo percentual, que, segundo compêndio oficial, não deve exceder 5%.



Figura 1: Ensaio do peso médio.

Fonte: Autor, 2019.

### *2.1.3 Friabilidade:*

Para esta determinação, pesou-se juntos 10 comprimidos e eles foram levados para o friabilômetro, sendo submetidos a 25 rotações por minuto durante 4 minutos. A Figura 2 apresenta este equipamento. Após, eles foram limpos e pesados novamente, na mesma balança, e calculou-se a eventual perda. De acordo com a Farmacopeia Brasileira, a perda máxima aceitável para este produto deve ser de no máximo 1,5%. Calculou-se a friabilidade, através da fórmula  $(P_i - P_f) \times 100 / P_i$ .

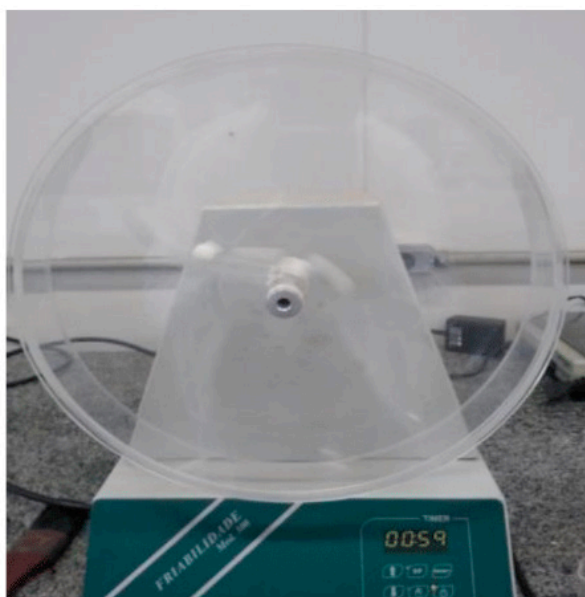


Figura 2: Friabilômetro.

Fonte: Autor, 2019.



#### *2.1.4 Dureza:*

Para tal determinação, foram feitos testes no durômetro com 10 comprimidos. Foram efetuadas medidas dos comprimidos expostos às situações domésticas e aos comprimidos controle para comparação. Este equipamento avalia a resistência desta forma farmacêutica ao esmagamento, sendo importante que não seja muito dura ao ponto de não desagregar no organismo humano, e nem pouco dura ao ponto de não resistir às diversas maneiras de manuseio, transporte e armazenagem a que possam ser submetidos. A Farmacopeia Brasileira recomenda dureza máxima de 30 N. A Figura 3 mostra o equipamento sendo utilizado na medição.



Figura 3: Durômetro sendo utilizado.

Fonte: Autor, 2019.

#### *2.1.5 Medida de Altura e Diâmetro dos comprimidos:*

Nesse ensaio avaliou-se possíveis deformações dos comprimidos selecionados, medindo sua altura e diâmetro após a exposição a que fora submetido, comparando-se ao valor obtido dos comprimidos considerados controle. Foi utilizado para esse procedimento um paquímetro da marca Digimess.





Figura 4: Paquímetro utilizado para medir o diâmetro dos comprimidos em teste.

Fonte: Autor, 2019.

### 3 | RESULTADOS

Conforme os resultados compilados na Tabela 1, abaixo, nota-se que os comprimidos armazenados indevidamente sofreram algumas alterações, comentadas mais detalhadamente a seguir.

Amostras dos comprimidos	Dureza	Friabilidade	Organoléptico	Diâmetro e Altura
Carro no blister	N	AP	AP	AP
Carro fora blister	N	AP	AP	AP
Microondas no blister	AP	AP	AP	AP
Microondas fora blister	AP	AP	AP	AP
Banheiro no blister	AP	AP	AP	AP
Banheiro fora blister	AP	AP	N	N

Tabela 1: Resultados dos testes de controle de qualidade.

Legendas: AP (aprovado) N (não aprovado)

Fonte: Autor, 2019.

#### 3.1 Determinação de Peso Médio, Desvio Padrão e Desvio Padrão Relativo (%)

Ao analisar os resultados dos comprimidos deixados por 45 dias no banheiro, no carro, em cima do microondas, e comparar com os comprimidos do mesmo lote, armazenados corretamente, na prateleira da drogaria, obteve-se o resultado imaginado, pois verificou-se diferença no peso dos mesmos. O limite de variação estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira para comprimidos acima de 250mg é de 5%. A Tabela 2 apresenta os valores obtidos.

AMOSTRA	PESO MEDIO (g)	DP (g)	DPR (%)
Banheiro fora blister	0,6272	0,01	2,3%
Banheiro no blíster	0,6278	0,03	3,95%
Carro fora do blister	0,6138	0,02	2,8%
Carro no blister	0,6138	0,02	2,5%
Microondas fora do blister	0,6186	0,01	2,2%
Microondas no blister	0,6222	0,01	2,1%
Controle (prateleira)	0,6208	0,02	2,5%

Tabela 2: Resultados dos cálculos de peso médio, desvio padrão e desvio padrão relativo.

Legendas: DP (desvio padrão) DPR (desvio padrão relativo)

Fonte: Autor, 2019.

Verificou-se que o comprimido controle (mantido na prateleira) teve peso médio de 0,6208g, menor do que todas as outras amostras, o que pode ter relação com absorção de umidade pelas formas farmacêuticas, sem diferenciação entre os que estavam dentro ou fora do blister. Isso mostra que o blister é um invólucro que oferece proteção somente quando armazenado em local indicado. Contudo, todas as amostras utilizadas para este teste ficaram dentro do valor preconizado de Desvio padrão e de DPR %, que seria de, no máximo 5%.

### 3.2 Determinação da Dureza

Verificou-se assim a resistência dos comprimidos ao esmagamento. Esse teste consistiu em submeter o comprimido à ação do durômetro, apresentando seu resultado em Kgf. Pela farmacopeia, o critério de aceitação é de 30N. Observou-se que os comprimidos armazenados no banheiro, dentro e fora do blister, apresentaram resultados muito semelhantes aos comprimidos que foram armazenados na prateleira, de forma correta. Os que estavam em cima do microondas no blister e sem o blister, também não tiveram alterações. Porém os que estavam armazenados no carro tiveram influência de raios solares e calor, e consecutivamente tiveram resultado alterado, comparado com a amostra controle, a saber: sem o blister 8,1Kgf e no blister houve maior alteração, visto que ao ser submetido ao esmagamento, no durômetro, chegou-se ao máximo de força aplicada e não houve rompimento das formas farmacêuticas

### 3.3 Determinação da Friabilidade

Através do teste de friabilidade, foi possível verificar a resistência ao atrito dos comprimidos em estudo, sob as diversas formas de armazenamento a que foram expostos. Conforme a Farmacopeia brasileira, é desejável obter valor igual ou inferior a 1,5% de perda do seu peso inicial. As amostras que estavam no banheiro, no blister, apresentaram 0,69%, enquanto que as que estavam no banheiro fora do blister 0,10%. As que estavam em cima do microondas, no blister, tiveram friabilidade de 0,23%, e as de cima do microondas, fora do blister, 0,05%. Já as amostras que ficaram no carro, no blister original, mostraram perda de 0,86% de pó, e as que estavam no carro, fora do blister, de 0,45%. Todos apresentaram baixa perda por desgaste, com valores situados dentro do limite de perda.

### 3.4 Características Organolépticas

Verificou-se alterações em alguns comprimidos. Os que estavam armazenados no carro, não sofreram mudança de cor e odor, bem como os comprimidos deixados em cima do microondas.

Já com relação aos que foram armazenados no banheiro, os que estavam no blister aberto tiveram sua cor e textura alteradas, verificando-se amarelamento e aspereza. A figura 5 apresenta a imagem dos comprimidos que ficaram fora do blister, e tiveram a cor alterada (amarela). Na sequência, pode-se observar as amostras dos comprimidos armazenados no banheiro fora do blister (1), amostra do comprimido armazenado dentro blister no banheiro (2) e o comprimido controle (3).



Figura 5: Amostras de comprimidos armazenados no banheiro

Fonte: Autor, 2019.

Já na Figura 6, a letra A se refere ao comprimido armazenado no banheiro no blister, a letra B diz respeito ao comprimido armazenado no banheiro dentro do blister, e a letra C ao comprimido armazenado em cima do microondas no blister. A letra D corresponde ao comprimido que foi armazenado em cima do microondas fora do blister, e a letra E

é referente ao comprimido armazenado no interior do carro, dentro do blister. A letra F, por fim, é referente ao comprimido que estava armazenado no carro, fora do blister. É importante relatar que o blister propriamente dito, que estava armazenado no carro, ficou totalmente danificado e teve redução de tamanho pelo fato de ter interagido com raios solares e por sofrer ação de altas temperaturas do local.

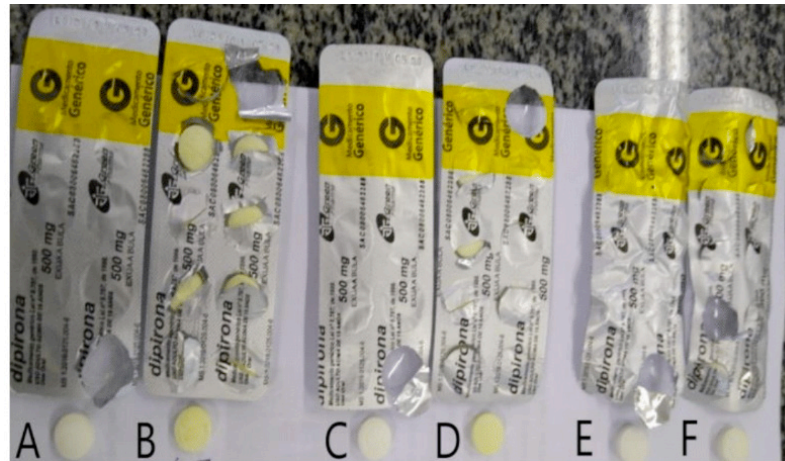


Figura 6: Imagem real dos comprimidos e suas alterações visíveis.

Fonte: Autor, 2019.

### 3.5 Medição de diâmetro e altura

Os comprimidos armazenados no carro, com blister e sem blister, em cima do microondas, com blister e sem blister, e armazenados no banheiro no blister, apresentaram a altura e espessura uniformes, sendo obtida altura média de 1,2 cm e largura de 0,5 cm. Mas, para o comprimido armazenado no banheiro, fora do blister, observou-se alterações, sendo que a altura verificada foi de 1,1 cm e a largura de 0,4 cm. Verificou-se o fenômeno conhecido como capping, quando a parte de cima do comprimido é separada do restante.

## 4 | DISCUSSÃO

Conforme apresentado no estudo realizado, e de acordo com os resultados dos artigos e literatura consultada, deve-se dar ênfase aos idosos, que, ao armazenarem os medicamentos sem critérios de estabilidade, e sem serem assistidos por familiares ou farmacêuticos, acabam levando os medicamentos a consequências físicas e químicas que podem interferir negativamente na biodisponibilidade dos princípios ativos que ali constam, impactando na saúde dos mesmos (STEFANO, 2018).

Sabe-se que os testes de estabilidade e prazo de validade dos produtos são executados com os mesmos nas embalagens originais, e tem como objetivo finalizar e preconizar os melhores locais para que sejam armazenados a fim de que se mantenham as características originais. Alterações na dureza das formas farmacêuticas sólidas após

determinada forma de armazenamento são especialmente importantes, visto que, se excessiva, pode comprometer a desagregação do comprimido, situação que vai afetar a dissolução e a absorção dos ativos, ou seja, a biodisponibilidade, que é um parâmetro farmacocinético de suma importância (ESPINDOLA, 2015). Cabe ressaltar aqui que, neste estudo, os comprimidos deixados no carro por 45 dias foram comprometidos por dureza aumentada, seja no blister ou fora dele. Pode-se supor que a temperatura alta e a baixa umidade podem ter sido responsáveis por tal resultado.

Por sua vez, a friabilidade de um comprimido é fundamental para sua qualidade, pois é relacionada com a perda de partes da forma farmacêutica, o que significaria que o paciente iria ingerir menor quantidade do ativo que foi perdido por esfarelar facilmente, prejudicando o tratamento e a saúde do mesmo (FERNADES, 2019). Neste estudo, os comprimidos não se mostraram friáveis, talvez por não terem sido submetidas a agitações excessivas em nenhum dos locais selecionados para armazenamento.

Já no teste de diâmetro e altura, verificou-se que, entre os comprimidos armazenados, o que saiu fora do normal foi o armazenado no banheiro, fora do blister. Tais medidas são importantes para avaliar a ocorrência de perda de ativo caso houvesse redução de tais medidas, ou inchaço por absorver umidade do ar (MARTINS, 2013).

O teste organoléptico, embora não seja decisivo, é importante quando se consegue visualizar alterações significativas dos medicamentos, como foi verificado neste trabalho com relação à cor e textura, pois, de acordo com a literatura, se há mudança organoléptica, a chance de alteração química é bastante grande (CAZEDEY, 2012).

Verificou-se ainda que, em relação ao Peso médio, os comprimidos acondicionados nos locais contraindicados apresentaram um aumento com relação ao comprimido controle, o que pode ter sido fruto de absorção de umidade. Já sobre o DPR, todos os resultados foram inferiores a 5%, o que significa que as amostras continuaram mantendo certa homogeneidade, e que se não houve perda de teor de dipirona (o que não foi verificado no presente estudo), o tratamento poderia ser feito com certa segurança (MARIANO, 2015).

O presente estudo demonstrou, portanto, que o papel do farmacêutico não se limita em simplesmente dispensar os medicamentos, mas também, de orientar o paciente quanto ao armazenamento correto dos mesmos, pois, além da diminuição da atividade terapêutica, pode ocorrer também a formação de produtos de degradação tóxicos, alergênicos e irritantes ao organismo, bem como pode haver contaminação dos produtos pela exposição inadequada a fatores como o calor, umidade, luz (BRAGA, 2019). Sabe-se que, conceitualmente, a atenção farmacêutica é vista como sendo uma prestação responsável da farmacoterapia, com o importante propósito de alcançar resultados definidos que melhorem a qualidade de vida dos pacientes (SI VA M. S., 2018).

## 5 | CONCLUSÃO

Concluiu-se que o armazenamento inadequado de medicamentos pode levar a muitas alterações e, consecutivamente, comprometer a eficácia da terapia. Ficou evidente que o farmacêutico desempenha papel fundamental na dispensação de medicamentos, ao salientar aos pacientes a importância de evitar certos locais de armazenagem, bem como indicar as melhores condições para tal. Além disso, cabe ao profissional farmacêutico estar atento e coordenar a distribuição e o armazenamento correto dos produtos, desde a cadeia produtiva, visto que tais cuidados fazem parte das suas atribuições e representam segurança ao paciente, ou seja, representa cuidado com a saúde da população.

## REFERÊNCIAS

**Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** ANVISA, 2019. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>

**Armazenamento incorreto afeta a ação dos medicamentos, alerta conselho.** Diretoria geral de assistência farmacêutica, 2015. Disponível em: <http://www.farmacia.pe.gov.br/noticia/armazenamento-incorreto-afeta-acao-dos-medicamentos-alerta-conselho>

BORGONOV, L. **Os 20 anos da lei dos medicamentos genéricos no Brasil.** Copyright © 2020 EMS Pharma, 01/03/2019. Disponível em: [file:///C:/Users/Robson%20Brusin/Documents/Artigos%20Selma%20Artigo\\_%20Os%2020anos%20da%20lei%20dos%20medicamentos%20gen%C3%A9ricos%20no%20Brasil%20\\_%20EMS.html](file:///C:/Users/Robson%20Brusin/Documents/Artigos%20Selma%20Artigo_%20Os%2020anos%20da%20lei%20dos%20medicamentos%20gen%C3%A9ricos%20no%20Brasil%20_%20EMS.html)

BRAGA, E. S.; VITAL, J. C. M. **A logística no transporte e armazenamento de medicamentos termolábeis.** X FATECLOG, junho de 2019. Disponível em: <http://fateclog.com.br/anais/2019/A%20LOG%C3%8DSTICA%20NO%20TRANSPORTE%20E%20ARMAZENAMENTO%20DE%20MEDICAMENTOS%20TERMOL%C3%81BEIS.pdf>

**BULÁRIO ELETRÔNICO.** ANVISA, 2013. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila\\_bula/index.as](http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/index.as)

CAZEDEY, E. C. L. **Análise químico-farmacêutica e estudos de estabilidade e de dissolução de comprimidos de orbifloxacino.** UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”, Campus Araraquara-SP, 2012. CAPES: 40300005. Disponível em: <https://www2.fcfa.unesp.br/Home/Pos-graduacao/CienciasFarmaceuticas/EDITH%20CRISTINA%20L%20CAZEDEY%20-%20DO.pdf>

ESPINDOLA, V. B.; CARDOSO, T. F. M.; SVERSUT, R. A.; CAROLLO, A. R. H.; AMARAL, M. S.; KASSAB, N. M. **Avaliação e comparação da qualidade de medicamentos contendo cloridrato ranitidina.** Rev. Bras. Farm., v. 96(2), p. 1248-1265, 2015.

**FARMACOPÉIA BRASILEIRA,** 6 ed. v. 2, p. 914, MONOGRAFIA. ANVISA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259143/LIVRO+FB+5.1+-+vers%C3%A3o+4+-+18-11-16.pdf/2d43f4e4-bf25-49a3-994c-d10cf5e47dcf>

FERNANDES, M. R.; FIGUEIREDO, R. C.; SILVA, L. G. R.; ROCHA, R. S.; BALDONI, A. O. **Armazenamento e descarte dos medicamentos vencidos em farmácias caseiras: problemas emergentes para a saúde pública.** Einstein Journal (São Paulo), v. 18, p. 1-6, 2020.

**LEI DOS GENÉRICOS,** NÚMERO 9787/1999. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l9787.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9787.htm)

LUCCAS, M. G.; SILVA, J. F. P. F.; MARQUES, K. M. R. **Armazenamento de materiais.** 2017 Disponível em:



MARIANO, M. D. C. *et al.* **Controle de qualidade físico-químico de comprimidos de dipirona sódica adquiridos em drogarias de São Luis de Montes Belos (GO).**

Revista Faculdade Montes Belos (FMB), v. 8(1), p. 1-10, 2015.

MARTINS, J. S.; SANTOS, P. N.; SILVA, G. A.; NETO, M. P. L. **Análise dos ensaios físicos de controle de qualidade de diferentes lotes de ASS.**

Revista interdisciplinar de ciências medicas – Anais – Teresina-PI. Disponível em: <https://gpicursos.com/interagin/gestor/uploads/trabalhos-feirahospitalarpiaui/c1fc5661b3e8c5cd301aef670424139d.pdf>

PINTO, V. B. **Armazenamento e distribuição: o medicamento também merece cuidados.** Uso Racional de Medicamentos: fundamentação em condutas terapêuticas e nos macroprocessos da Assistência Farmacêutica. OPAS/OMS – Representação Brasil, v. 1(12), Brasília, julho de 2016.

QUEIROZ, T. P. *et al.* **Dipirona versus paracetamol no controle da dor pós-operatória.** Rev Odontol UNESP, v. 42(2), p. 78-82, 2013.

ROBLEDO, J. C.; SAAVEDRA, J. P. H. **Patentes e crescimento econômico: inovação de residentes ou não residentes?** Desenvolvimento e Sociedade, nº 76, junho de 2016. Disponível em: <file:///C:/Users/Robson%20Brusin/Downloads/segundo%20artigo%20dos%2010.html>

SALLUM, A. M. C.; GARCIA, D. M.; SANCHES, M. **Dor aguda e crônica: revisão narrativa da literatura.** Acta Paulista de Enfermagem, vol. 25(1), p. 150-154, 2012.

SILVA, K. E. R.; ALVES, L. D. S.; SOARES, M. F. R.; PASSOS, R. C. S.; FARIA, A. R.; NETO, P. J. R. **Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica.** Rev Ciênc Farm Básica Apl., v. 30(2), p. 1-8, 2009.

SILVA, M. S.; GERON, V. L. M. G. **Avaliação de armazenamento de medicamento em domicílio em um bairro de ariquemes / RO.** Revista Científica AEMA, v. 9, Jun. 2018. Disponível em: <http://www.faema.edu.br/revistas/index.php/Revista-FAEMA/article/view/rcf.v9iedesp.609>

STEFANO, I. C. A.; CONTERNO, L. O.; FILHO, C. R. S.; MARIN, M. J. S. **Uso de medicamentos por idosos: análise da prescrição, dispensação e utilização num município de porte médio do estado de São Paulo.** Rev. Bras. Geriatr. Gerontol., v. 20(5), p. 681-692, 2017.

## UM NOVO MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DE VITAMINAS B<sub>6</sub> E B<sub>12</sub> POR CLAE

Data de aceite: 05/06/2020

Data de submissão: 17/04/2020

### Luciano Almeida Alves

Faculdade de Farmácia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9502955705224342>

### Suélen Ramon da Rosa

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8480383263835861>

### Patrícia Weimer

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7199119376512351>

### Josué Guilherme Lisbôa Moura

Faculdade de Farmácia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8871364544401478>

### Juliana de Castilhos

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0738806169538363>

### Rochele Cassanta Rossi

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0627260486404735>

**RESUMO:** Com o consumo difundido de preparações multivitamínicas, há procura por métodos mais rápidos e específicos para quantificar os componentes da formulação, garantindo segurança e eficácia desses suplementos. O objetivo desse estudo foi desenvolver e validar um método por CLAE, indicativo de estabilidade, para análise simultânea das vitaminas piridoxina (B<sub>6</sub>) e cianocobalamina (B<sub>12</sub>). O método desenvolvido demonstrou especificidade para detecção das vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> na presença de excipiente comumente utilizado em suplementos vitamínicos. Além disso, foram confirmados os parâmetros de linearidade, exatidão e precisão intra e interdia, estando todos os valores de acordo com os guias internacionais e nacionais para validação de método analítico. Para assegurar a indicação de estabilidade, foram conduzidos estudos de degradação forçada, em que foi possível distinguir e identificar mudanças no perfil cromatográfico. Os resultados obtidos comprovaram a eficiência do método proposto



e, evidencia a sua aplicabilidade em processo de controle de qualidade para avaliação de vitaminas do complexo B e respectivos testes de estabilidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Complexo Vitamínico; Cromatografia Líquida; Piridoxina; Cianocobalamina; Degradação Forçada.

## A NEW HPLC METHOD FOR SIMULTANEOUS QUANTIFICATION OF VITAMINS B<sub>6</sub> AND B<sub>12</sub>

**ABSTRACT:** Associated with the high consumption of multivitamin supplements, there is a search for faster and more specific methods to quantify the components of the formulation, thus guaranteeing the safety and effectiveness of these supplements. This study aimed at the development and validation of a method by HPLC, indicative of stability, for simultaneous analysis of the vitamins pyridoxine (B<sub>6</sub>) and cyanocobalamin (B<sub>12</sub>). The developed method demonstrated specificity for the detection of vitamins B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub> in the presence of excipient commonly used in vitamin supplements. In addition, the parameters of linearity, accuracy and intra- and inter-day precision were confirmed, with all values in accordance with international and national guides for validation of analytical methods. To ensure the indication of stability, forced degradation studies were conducted, in which it was possible to distinguish and identify changes in the chromatographic profile. The results obtained proved the efficiency of the proposed method and, evidences its applicability in quality control process for evaluation of B vitamins and respective stability tests.

**KEYWORDS:** Vitamin Complex; Liquid Chromatography; Pyridoxine; Cyanocobalamin; Forced Degradation.

## 1 | INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas décadas, associadas às mudanças nas diretrizes dietéticas e mudanças no estilo de vida, houve uma alteração no padrão alimentar da população (FERREIRA; BARBOSA; VASCONCELOS, 2019; LEVY et al., 2012). Vinculado a esse fator, encontra-se a praticidade da suplementação e a tendência da autossuplementação, muitas vezes sem mensurar os riscos reais intrínsecos (MELLO et al., 2019).

O mercado de vitaminas e suplementos alimentares é bilionário, enquanto no Brasil movimentam mais de R\$ 1 bilhão por ano, nos Estados Unidos (EUA), movimentam US\$ 30 bilhões anuais. A alta competitividade entre os laboratórios farmacêuticos, estimula o aumento da publicidade e, conseqüentemente, o seu consumo, pois há uma parcela crescente da população que está disposta a investir tempo e recursos a fim de viver mais e com qualidade de vida (ABE-MATSUMOTO; SAMPAIO; BASTOS, 2015; SCHROETER; ANDERS; CARLSON, 2013).

As vitaminas do complexo B exercem muitas funções importantes para a fisiologia humana. Desta forma, associações de vitaminas do complexo B estão sendo largamente utilizadas na terapêutica, principalmente na forma farmacêutica sólida, como cápsulas e comprimidos, pela facilidade de administração. Esse uso é embasado em evidências científicas fortes, estudos clínicos randomizados, por exemplo, apontam que a suplementação de vitaminas do complexo B com B6, B9e B12reduziram o risco de acidente vascular cerebral (ARMITAGE, 2010; HANKEY et al., 2010; JENKINS et al., 2018; KRISTINE; PEDERSEN, 2008; VAN DIJK et al.,2015).Contudo, grande partedos multivitamínicos,popularmente comercializados,não apresenta eficácia asseguradapara a saúde, pois existem baixos oumoderados níveis de evidênciaspara benefícios preventivos. Não foram demonstradas evidênciasconclusivaspara o benefício de qualquer suplemento em todos os contextos alimentares (incluindo deficiência e suficiência),portanto, todos os benefícios vistos devem ser equilibrados contra possíveis riscos(JENKINS et al., 2018).

Suplementos são vendidos livremente, sem a necessidade de prescrição ou acompanhamento de um profissional da saúde qualificado. Estudos apontam para o alto consumo de suplementos em condições que não se verifica a real necessidade da suplementação e,na ausência de acompanhamento com exames laboratoriais, o uso irracional pode resultar em eventos adversos, com danosirreversíveis, mesmo que evitáveis (MELLO et al., 2019). Outro fator preocupantenesta perspectiva, é a existência produtos adulterados e, até mesmo, falsificados(SI VA; SILVA, 2019). Alguns suplementos podem ter em suas formulações ingredientes que não são aprovados pelos órgãos reguladores ou, cuja quantidade excede o previsto nas legislações. Há relatos que chegam a ter 1600% de vitamina B12e 325% de vitamina B6, segundo a ingestão diária recomendada a um adulto. Sendo que, hipervitaminoses causada pela ingestão excessiva de vitamina B12ou B6, pode levar a reações alérgicas e danos no sistema nervoso, respectivamente(BASUALDO; PRADO; KONDO, 2014).

Portanto, considerando a linha tênue entre benefícios e efeitos colaterais da suplementação de vitaminas, é de extrema importância que laboratórios de controle de qualidade, agências reguladoras e indústrias monitoraremo teor dos componentes da formulação. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e validação de um método analítico indicativo de estabilidade rápido e eficiente para a determinação simultânea das vitaminas B6e B12.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Reagentes e padrões

Todos os reagentes utilizados para a análise cromatográfica foram de grau analítico HPLC. O metanol (>99,999%) foi adquirido da J. T. Baker (PA, EUA). Os reagentes para o

tampão e ajuste de pH, incluindo ácido acético glacial, hidróxido de sódio e ácido clorídrico foram adquiridos da Merck (DA, Alemanha). As substâncias químicas de referência (SQR) Piridoxina (>98,0%) e Cianocobalamina (>98,0%) foram adquiridas da Sigma Aldrich (MO, EUA) e Supelco (PA, EUA), respectivamente. A água ultrapura foi obtida através do sistema de purificação Milli-Q PLUS (Millipor<sup>®</sup>, MA, EUA).

## 2.2. Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência e condições cromatográficas

Para a análise das vitaminas se utilizou o cromatógrafo líquido LC-20AT (Shimadzu, Japão), equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) SPM-20A, desgaseificado DGU-20A<sub>SR</sub>, forno de coluna CTO-20A, central de controle CBM-20A e injetores manual e automático SIL-20A HT. A separação e quantificação foram efetuadas com coluna CLD-ODS C18 (150 mm x 4,6 mm x 5 µm) acoplada a uma pré-coluna G-ODS de mesmo material (Shimadzu, Japão). A fase móvel foi constituída de tampão acetato pH 4,0 (A) e metanol grau (B), eluída a 1,0 mL/min, em sistema gradiente, conforme descrito na Tabela 1. As amostras foram diluídas em solução de água ultrapura:metanol (80:20 v/v) e injetadas no volume fixo de 20 µL. A detecção foi realizada a 290 nm e o armazenamento dos dados, bem como o processamento, foi realizado com o software LC-Shimadzu.

Tempo (min)	Fase móvel A (%)	Fase móvel B (%)
6:00	100,0	0,0
10:00	80,0	20,0
30:00	70,0	30,0
30:01	100,0	0,0
35:00	100,0	0,0

Tabela 1 – Sistema de eluição gradiente

## 2.3. Validação de Método

O método de quantificação simultânea de vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> por CLAE foi validado conforme os parâmetros descritos pelas diretrizes da ICH e RDC 166 de 2017 (BRASIL, 2017; ICH, 2005) "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology – Q2 (R1).

### 2.3.1. Preparo das Soluções Estoque e de Análise

Soluções estoque e soluções de análise foram preparadas com diluente composto por água ultrapura e metanol (80:20 v/v). A solução estoque foi preparada contendo simultaneamente as vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> a 100,00 µg/mL. A partir desta, foram realizadas diluições em balões volumétricos para obtenção das seguintes concentrações: 10,00,

20,00, 30,00, 40,00 e 50,00 µg/mL. Previamente à injeção, todas as amostras foram filtradas em membrana de PVDF (diâmetro de poro de 0,45 µm)

### *2.3.2. Especificidade e Estudos de Degradação Forçada*

Para determinação da especificidade se avaliou a possibilidade de interferência dos excipientes comumente utilizados em complexos vitamínicos comerciais. Para tal, foi preparada uma solução de excipiente simulado (estearato de magnésio a 2,0% e amido de milho 98,0%), conforme preparo descrito na *seção 2.4.1*. Também foram conduzidos estudos de degradação forçada de acordo com as condições descritas abaixo (BRAZIL, 2019):

- a) Hidrólise alcalina: exposição das SQRs à solução de NaOH 0,1 M por 24 horas e ao abrigo da luz.
- b) Hidrólise ácida: das SQRs em solução de HCl 0,1 M por 24 horas e ao abrigo da luz.
- c) Degradação térmica: exposição das SQRs a 60 °C por 24 horas;
- d) Fotodegradação: exposição das SQRs à luz UV-C por 10 minutos.

### *2.3.3. Linearidade e Limites de Detecção e Quantificação*

A linearidade foi determinada pela injeção de soluções de análise das vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> nas concentrações de 10,00, 20,00, 30,00, 40,00 e 50,00 µg/mL. As injeções foram realizadas em triplicata e em três dias diferentes. As equações das retas e o coeficiente de correlação foram obtidos por regressão linear e todos os dados foram avaliados pelo teste de ANOVA. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram obtidos por métodos instrumentais, a partir das equações da reta do ensaio de linearidade e conforme preconizado pelo ICH (2005).

### *2.3.4. Precisão e Exatidão*

A precisão do método proposto foi mensurada por repetibilidade (precisão intradia) e pela precisão intermediária (interdia), através do desvio-padrão obtido após injeções repetidas de seis soluções das SQRs a 30,00 µg/mL em três dias diferentes. A concentração de 30,00 µg/mL foi escolhida por corresponder a concentração intermediária da curva (10,00 a 50,00 µg/mL) (BRASIL, 2017).

Para a avaliação da exatidão se aplicou o método de adição de padrão e calculou o percentual de recuperação do mesmo (BRASIL, 2017). Para a execução do método, preparou-se uma solução de excipiente e foi adicionada a solução padrão das vitaminas de concentração conhecida, obtendo-se soluções de 20,00, 30,00 e 40,00 µg/mL. Soluções

de mesmas concentrações e com ausência de excipientes também foram injetadas, possibilitando a determinação da exatidão pela Eq. (01).

$$\text{Eq. (01)} \quad \text{Exatidão (\%)} = \frac{\text{concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \times 100$$

### 2.3.5. Robustez e Adequabilidade do Sistema Cromatográfico

A robustez do método analítico foi avaliada quanto variação de fluxo e equipamento. Para a variação de fluxo, aplicou-se as vazões de 0,9 e 1,2 mL/min. E para a robustez quanto a troca de equipamento, foi utilizado o cromatógrafo líquido modelo LC-6AD (Shimadzu, Japão), sendo este composto por duas bombas independentes. A adequabilidade do sistema cromatográfico foi avaliada quanto aos parâmetros resolução de pico, tempo de retenção, eficiência da coluna cromatográfica e assimetria de pico. Para estes ensaios se utilizou a solução das SQRs a 30,00 µg/mL.

## 3 | 3 RESULTADOS

### 3.1 Especificidade e Estudos de Degradação Forçada

Os resultados dos ensaios de especificidade e estudos de degradação forçada são apresentados nas Fig. 1 e 2, respectivamente. Ao comparar os cromatogramas da solução de SQRs e excipiente (Fig. 1) é possível observar que não houve sobreposição de sinal no comprimento de detecção (290 nm), ou seja, o método demonstrou especificidade para a avaliação simultânea de vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub>, representadas pelos picos com tempo de retenção de 8,5 min e 22,4 min, sem interferência do excipiente.

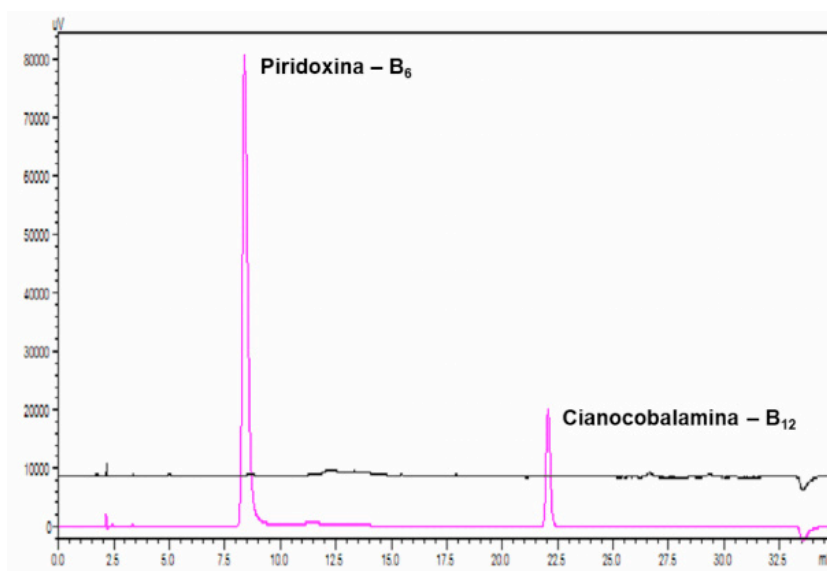


Figura 1 – Ensaio de especificidade: cromatograma das SQRs (em rosa) e cromatograma do excipiente (em preto), detecção a 290 nm

Ao simular a hidrólise alcalina (Fig. 2-A), com solução de NaOH 0,1 M, não se observou alterações no tempo de retenção, bem como área no pico referente a vitamina B<sub>6</sub>. Contudo, houve degradação do pico de cianocobalamina, com presença de pico adjacentes e diminuição da área em aproximadamente 93%, indicando assim, a instabilidade da vitamina B<sub>12</sub> em meio alcalino. Na condição de pH ácido, simulado com solução de HCl 0,1M, não foi possível observar nenhuma alteração no cromatograma, conforme representado na Fig. 2-B. Da mesma forma, não foram observadas alterações significativas no ensaio de degradação térmica, ao expor as SQRs por 24 horas a temperatura de 60 °C (Fig. 2-C).

No ensaio de fotodegradação com luz UV-C foram testados outros tempos de exposição (1 h, 12 h e 24 h), contudo, estes tempos de exposição conferiram uma degradação muito expressiva das SQRs das vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> e, optou-se pela condução do ensaio com exposição por 10 minutos (Fig. 2-D). A exposição por 10 minutos implicou em uma redução de 31,8% na área dos picos de ambas as vitaminas.

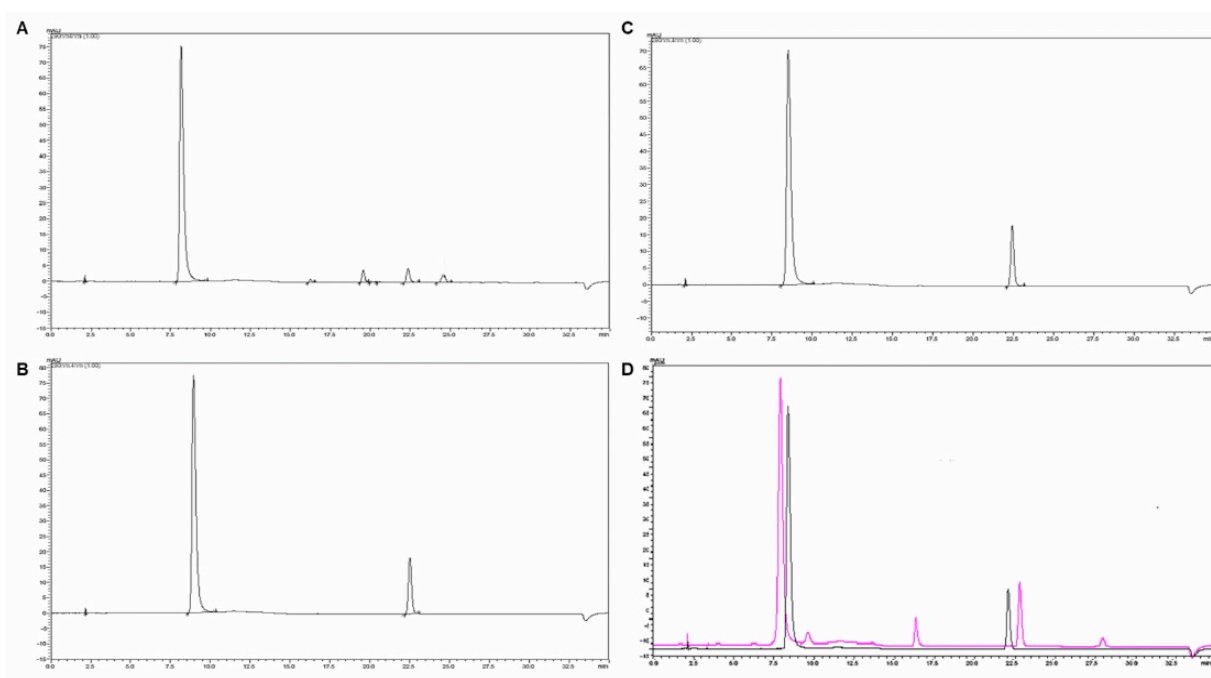


Figura 2 – Cromatogramas das SQRs submetidas às condições de degradação forçada, detecção a 290 nm. **(A)** Hidrólise alcalina, **(B)** Hidrólise ácida, **(C)** Degradação térmica, **(D)** Fotodegradação: SQRs expostas à luz UV-C (em rosa), SQRs não expostas à luz UV-C (em preto)

### 3.2 Linearidade e Limites de Detecção e Quantificação

Para ambas as vitaminas, avaliou-se a linearidade do método na faixa de concentração de 10,00 a 50,00 µg/mL em três dias, encontrando a equação da reta para piridoxina igual a  $y = 32059x - 1156,4$  ( $r = 0,9998$ ) e para cianocobalamina de  $y = 6812,5x + 800,3$  ( $r = 0,9999$ ). Com aplicação do teste de ANOVA, confirmou a relação linear entre as

concentrações e áreas obtidas para a piridoxina, sendo valor de  $F_{\text{calculado}} 9532,67 > F_{\text{tabelado}} 4,39$  e sem desvio da linearidade ( $F_{\text{calculado}} 0,55 < F_{\text{tabelado}} 4,53$ ). As mesmas relações foram observadas para as curvas de cianocobalamina, sem desvio da linearidade ( $F_{\text{calculado}} 0,00 < F_{\text{tabelado}} 4,53$ ). Os limites de detecção e quantificação para a piridoxina foram 0,11 µg/mL e 0,32 µg/mL, respectivamente. E para cianocobalamina foram 0,16 µg/mL e 0,48 µg/mL.

### 3.3 Precisão e Exatidão

Os resultados da precisão intradia (n=6) e interdia (3 dias) são apresentados na Tabela 2. Conforme apresentado, para ambas as vitaminas, o método proposto foi preciso com desvio-padrão relativo intra e interdia inferiores a 5%, sendo o valor de DPR mais alto de 0,51%.

Os resultados obtidos para o parâmetro exatidão, pelo método de adição de padrão, demonstraram faixa de recuperação de padrão para vitamina B<sub>6</sub> entre 99,85% e 100,12% e para vitamina B<sub>12</sub> 99,92% a 100,07%, além disso, os valores de DPR foram inferiores a 1,00%, assegurando a exatidão do método.

Teor de Piridoxina (%)								
Dia	1	2	3	4	5	6	Média	DPR (%)
1	100,09	99,43	99,43	99,43	100,55	99,28	99,70	0,51
2	99,20	100,04	100,18	100,18	100,05	100,27	99,99	0,39
3	100,23	100,54	100,19	100,19	100,27	100,39	100,30	0,14
<b>Média interdia B<sub>6</sub> (n=3)</b>							99,99	
<b>DPR interdia B<sub>6</sub> (n=3)</b>							0,43	

Teor de Cianocobalamina (%)								
Dia	1	2	3	4	5	6	Média	DPR (%)
1	99,89	99,78	99,83	99,54	99,75	99,68	99,75	0,12
2	99,22	99,80	99,83	100,39	100,09	100,25	99,93	0,42
3	100,07	100,57	100,40	100,52	100,27	100,11	100,32	0,21
<b>Média interdia B<sub>12</sub> (n=3)</b>							100,00	
<b>DPR interdia B<sub>12</sub> (n=3)</b>							0,36	

Tabela 2 – Resultados do ensaio de precisão intra e interdia para vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub> a 30,00 µg/mL

*DPR – Desvio-padrão relativo*

### 3.4 Robustez e Adequabilidade do Sistema Cromatográfico

O ensaio de robustez avaliou possíveis variações de fluxo e troca de equipamento, que podem ocorrer durante análises rotineiras. Os resultados da alteração da vazão de 1,0 mL/min para 0,9 mL/min e 1,2 mL/min podem ser visualizados na Fig. 3. O principal



parâmetro neste ensaio foi o tempo de retenção dos picos. Com redução do fluxo para 0,9 mL/min (Fig. 3-B) houve aumento no tempo de retenção de 8,50 para 8,57 min, para vitamina B<sub>6</sub>, e de 22,4 para 23,4 min para B<sub>12</sub>, ou seja, as variações foram inferiores a 5,00%. Conforme o esperado, o aumento do fluxo para 1,2 mL/min implicou na redução dos tempos de retenção, sendo observados os valores de 6,53 min e 20,83 min para as vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub>, respectivamente. Portanto, o aumento do fluxo refletiu numa redução expressiva do tempo de retenção com variação de 23,00% e 7,00%. Apesar disso, os demais parâmetros, área do pico, resolução e pratos teóricos não foram alterados.

A troca de equipamento implicou na discreta redução dos tempos de retenção em 6,7% para vitamina B<sub>6</sub> e 0,1% para vitaminas B<sub>12</sub>, sendo considerando um método robusto quanto a troca de equipamento. Importante ressaltar, que assim como a alteração de fluxo, a troca de equipamento não resultou em modificações nos demais parâmetros cromatográficos para ambas as vitaminas.

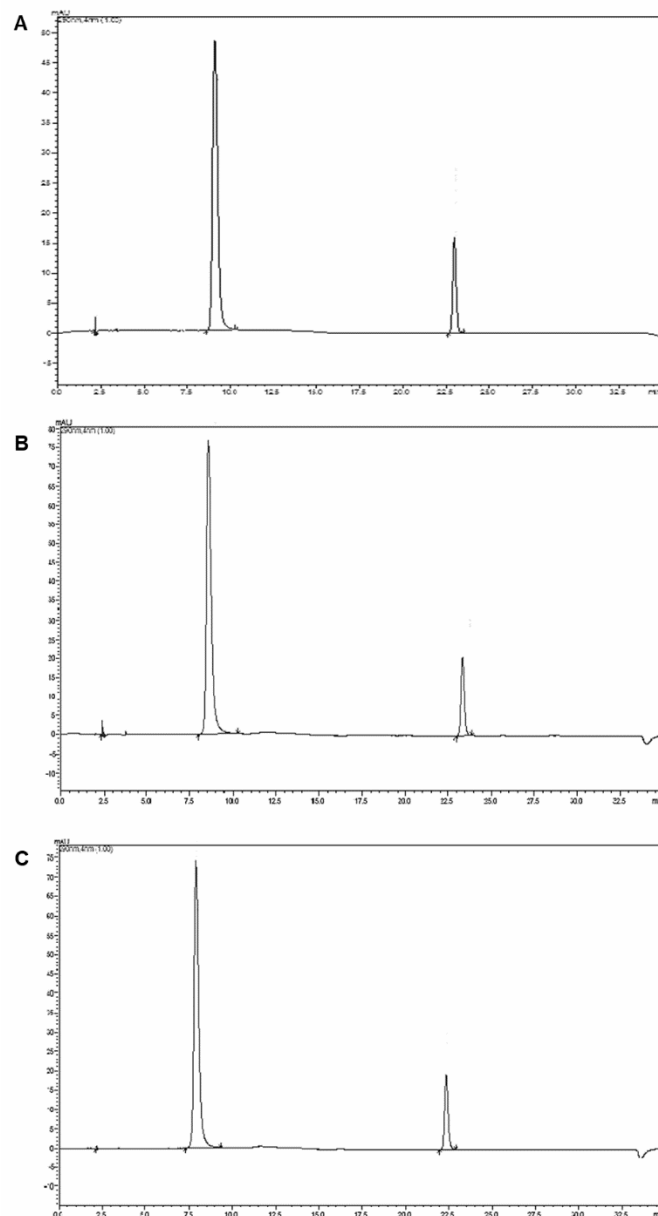




Figura 3 – Cromatogramas das SQRs submetidas ao ensaio de robustez quanto a variação de fluxo, detecção a 290 nm. (A) Fluxo 1 mL/min; (B) Fluxo 0,9 mL/min; (C) Fluxo 1,2 mL/min

A Tabela 3 apresenta os valores médios para os parâmetros analisados no ensaio de adequabilidade do sistema cromatográfico, assim como os valores de referência internacionais preconizados pelo ICH (2005). A partir dos resultados é possível assegurar que o método desenvolvido está de acordo com os parâmetros de adequabilidade do sistema.

Vitamina	Tr (min)	FC	K'	Rs	N	Área
B <sub>6</sub>	8,50	1,444	3,406	25.398	5306.737	1288776
B <sub>12</sub>	22,40	1,386	11,657	85.510	55962.297	163634
<b>Valores de referência*</b>	na	< 2	> 2	> 2	> 2000	na

Tabela 3 – Resultados da adequabilidade do sistema cromatográfico para solução das vitaminas a 30 µg/mL

\*Conforme ICH, 2005; Tr – Tempo de retenção; FC – Fator de cauda; K' - Fator de capacidade; Rs – Resolução; N - Número de pratos teóricos; na – Não aplicável.

## 4 | DISCUSSÃO

Nesse método proposto, para quantificação de vitaminas B<sub>6</sub> e B<sub>12</sub>, em suplementos vitamínicos, o preparo da amostra é simples e rápido, com diluentes comumente encontrados em laboratórios de controle de qualidade e que não possuem alto custo agregado. Importante ressaltar que ambas as vitaminas se encontram na sua forma isolada e purificada em multivitamínicos, portanto etapas como digestão enzimática ou microbiológica para extração dessas vitaminas não são necessárias no preparo da amostra, sendo aplicáveis somente quando se trata de matrizes alimentícias complexas, como grãos (GRANDA et al., 2018).

Na escolha do comprimento de onda adequado, analisou-se o espectro de máxima absorção de ambas as vitaminas (200 a 400 nm), e a partir dos perfis se selecionou o comprimento de 290 nm. Apesar do método ter sido validado em um CLAE com detector DAD (detector de arranjo de diodos), em que é possível selecionar o comprimento de onda após a corrida das amostras, ou seja, permite trabalhar com mais de um comprimento de onda em uma única análise. Mas, muitos laboratórios possuem CLAE acoplados a detectores UV-VIS, em que a análise pode ser processada em um único comprimento de onda. Desta forma, a aplicação de um único comprimento de onda com boa resposta para ambas as vitaminas oportuniza a extensão de aplicação deste método para laboratórios

que possuam CLAE/UV-VIS.

Fase móvel eluída em sistema gradiente permitiu a separação mais rápida das vitaminas, menor tempo de corrida e assegurou a separação efetiva dos picos, com resolução muito superior ao valor estipulado pelo ICH (2005). A ordem de eluição correspondeu as características físico-químicas das moléculas, em que o baixo peso molecular (169,2 g/mol) e alta hidrofília ( $\text{Log}P$  -0,8) apresentados pela piridoxina justificam sua baixa interação com a fase estacionária e conseqüentemente sua eluição como primeiro pico (NCBI, 2020a, 2020b). Tempos de corridas semelhantes, bem como composição da fase móvel por água acidificada e metanol já foram explorados em outros trabalhos para separação de vitaminas do complexo B (KUMINEK et al., 2011; SIM; KIM; LEE, 2016; ZAFRA-GÓMEZ et al., 2006).

## 5 | CONCLUSÃO

A quantificação simultânea de vitaminas do complexo B, por método validados, é de extrema importância na garantia de qualidade e segurança de suplementos alimentares, tomando por base a tendência mundial da suplementação alimentar. O método cromatográfico validado para quantificação simultânea das vitaminas  $B_6$  e  $B_{12}$  demonstrou ser específico, linear, preciso, exato, robusto e de acordo com os parâmetros de adequabilidade do sistema cromatográfico. Ademais, o método proposto pode ser classificado como método indicativo de estabilidade, tendo em vista os resultados obtidos nos ensaios de degradação forçada e a concordância dos mesmos com o guia internacional para métodos indicativos de estabilidade do ICH.

## REFERÊNCIAS

ABE-MATSUMOTO, Lucile Tiemi; SAMPAIO, Geni Rodrigues; BASTOS, Deborah H. M. Suplementos vitamínicos e/ou minerais: Regulamentação, consumo e implicações à saúde. **Cadernos de Saude Publica**, [s. l.], v. 31, n. 7, p. 1371–1380, 2015.

ARMITAGE, Jane M. Effects of folic acid plus vitamin B12 vs placebo in myocardial infarction survivors. **Journal of the American Medical Association**, [s. l.], v. 303, n. 24, p. 2486–2494, 2010.

BASUALDO, Carlos R. C.; PRADO, Danilo H. S.; KONDO, Mario. O perigo dos suplementos alimentares. **Viver**, SP, 2014.

**BRASIL. RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências.** 2017.

**BRAZIL. Resolução - RDC Nº 318, de 06 de novembro de 2019. Estabelece os critérios para a realização de Estudos de Estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, exceto biológicos, e dá outras providências.** 2019.

FERREIRA, Raphaela Costa; BARBOSA, Lídia Bezerra; VASCONCELOS, Sandra Mary Lima. Studies assessing food consumption by the scores method: a systematic review. **Ciencia & saude coletiva**, [s. l.], v. 24, n. 5, p. 1777–1792, 2019.

- GRANDA, Leiter et al. Content of Selected Vitamins and Antioxidants in Colored and Nonpigmented Varieties of Quinoa, Barley, and Wheat Grains. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 83, n. 10, p. 2439–2447, 2018.
- HANKEY, G. J. et al. B vitamins in patients with recent transient ischaemic attack or stroke in the VITAMins to prevent stroke (VITATOPS) trial: A randomised, double-blind, parallel, placebo-controlled trial. **The Lancet Neurology**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. 855–865, 2010.
- ICH. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology – Q2 (R1)**. [s.l.] : International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use, 2005.
- JENKINS, David J. A. et al. Supplemental Vitamins and Minerals for CVD Prevention and Treatment. **Journal of the American College of Cardiology**, [s. l.], v. 71, n. 22, p. 2570–2584, 2018.
- KRISTINE, Eva; PEDERSEN, Ringdal. Mortality and Cardiovascular Events in Patients Treated With Homocysteine-Lowering B Vitamins After Coronary Angiography. **Journal of the American Medical Association**, [s. l.], v. 300, n. 7, p. 795–804, 2008.
- KUMINEK, Gislaine et al. High-performance column liquid chromatographic method for the simultaneous determination of buclizine, tryptophan, pyridoxine, and cyanocobalamin in tablets and oral suspension. **Journal of AOAC International**, [s. l.], v. 94, n. 6, p. 1785–1790, 2011.
- LEVY, Renata Bertazzi et al. Regional and socioeconomic distribution of household food availability in Brazil, in 2008-2009. **Revista de Saude Publica**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 6–15, 2012.
- MELLO, Acsa Lima Marinho Fonseca De et al. Product indiscriminate use of vitamin risks: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], p. 1–16, 2019.
- NCBI, National Center for Biotechnology Information. **Pyridoxine. PubChem CID: 1054**. 2020a.
- NCBI, National Center for Biotechnology Information. **Cyanocobalamin. PubChem CID: 5311498**. 2020b. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5311498>>.
- SCHROETER, Christiane; ANDERS, Sven; CARLSON, Andrea. The economics of health and vitamin consumption. **Applied Economic Perspectives and Policy**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 125–149, 2013.
- SILVA, Augusto Santana Palma; SILVA, Sheila Torres Feitosa. Descrição de rótulos de medicamentos como estratégia para identificação de medicamentos falsificados. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 205, 2019.
- SIM, Hee Jung; KIM, Byungjoo; LEE, Joonhee. A systematic approach for the determination of B-Group vitamins in multivitamin dietary supplements by high-performance liquid chromatography with diode-array detection and mass spectrometry. **Journal of AOAC International**, [s. l.], v. 99, n. 5, p. 1223–1232, 2016.
- VAN DIJK, Suzanne C. et al. Effects of 2-year vitamin B12 and folic acid supplementation in hyperhomocysteinemic elderly on arterial stiffness and cardiovascular outcomes within the B-PROOF trial. **Journal of Hypertension**, [s. l.], v. 33, n. 9, p. 1897–1906, 2015.
- ZAFRA-GÓMEZ, Alberto et al. Simultaneous determination of eight water-soluble vitamins in supplemented foods by liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 54, n. 13, p. 4531–4536, 2006.

## UTILIZAÇÃO DA TITULOMETRIA NA QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE ACIDEZ DE VINHOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE IRECÊ-BA

Data de aceite: 05/06/2020

### Joice Rosa Mendes

Graduanda do Curso de Bacharelado em Farmácia, Faculdade Irecê (FAI)  
Irecê-BA

### Tarcísio Rezene Lopes

Graduando do Curso de Bacharelado em Farmácia, Faculdade Irecê (FAI)  
Irecê-BA

### Tainara Nunes Mota

Graduanda do Curso de Bacharelado em Farmácia, Faculdade Irecê (FAI)  
Irecê-BA

### Lara Souza Pereira

Graduanda do Curso de Bacharelado em Farmácia, Faculdade Irecê (FAI)  
Irecê-BA

### Joseane Damasceno Mota

Doutora em Engenharia Química (UFCG),  
Docente da Faculdade Irecê (FAI)  
Irecê-BA

### Joseneide Alves Miranda

Mestre em biotecnologia (UEFS), Coordenadora do curso de Farmácia, Faculdade Irecê (FAI)  
Irecê-BA

### Nadjma Souza Leite

Doutora em Engenharia Química (UNICAMP),  
Docente da Faculdade Irecê (FAI)  
Irecê-BA

### Thiago Brito de Almeida

Mestre em Química (UFPB), Docente da Faculdade Irecê (FAI)  
Irecê-BA

**RESUMO:** O vinho é uma bebida alcoólica proveniente do processo de fermentação do sumo de uvas. Após a produção, o vinho é submetido a análise de parâmetros como o da acidez, quais fornecem indícios sobre qualidade da bebida. Um dos métodos mais empregados para a determinação da acidez ou basicidade do meio, é a técnica de titulometria de neutralização. Determinar o teor de acidez em três marcas de vinhos tintos comercializados na região de Irecê-BA. Os experimentos foram realizados no laboratório multidisciplinar na FAI. Foram analisadas as marcas A, B e C, utilizando a titulometria de neutralização. Adicionou-se 5 mL de vinho em Erlenmeyer, 30 mL de água destilada e 1 mL de solução indicadora de azul de bromotimol e seguiu com a titulação contra uma solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,0987 mol.L<sup>-1</sup>) padronizada, até mudança de coloração de vermelho castanho para azul

esverdeada. As análises foram feitas em triplicata para cada marca de vinho, com cálculos de média e desvio padrão de cada amostra. Os vinhos tintos A, B e C apresentaram 74; 84,6 e 108,6 mEq.L<sup>-1</sup>, respectivamente de ácido tartárico. Os dados estão em concordância com a literatura, tendo em vista que quanto menor o volume de NaOH gasto na titulação, menor o índice de acidez. As três marcas de vinhos analisadas enquadram-se nos padrões de qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura. Em que preconiza o teor máximo de ácido tartárico de 130 mEq.L<sup>-1</sup>. Mediante a metodologia aplicada, conclui-se que as três marcas de vinhos avaliados possuem índice de acidez menor do que o teor máximo aceito pelo ministério vigente, indicando dessa forma, sua adequação com os padrões de qualidade propostos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Vinhos tintos; Ácido tartárico; Titulometria de neutralização.

## UTILIZATION OF TITULOMETRY IN QUANTIFICATION THE ACIDITY CONTENT OF WINES COMMERCIALIZED IN THE IRECÊ-BA REGION

**ABSTRACT:** Wine is an alcoholic beverage derived from the fermentation process of grape juice. After production, the wine is subjected to an analysis of parameters such as acidity, which provide evidence of the quality of the beverage. One of the most widely used methods for determining the acidity or basicity of the medium is the neutralization titulometry technique. To determine the acidity content in three brands of red wines marketed in the Irecê-BA region. The experiments were performed in a multidisciplinary laboratory at FAI. Brands A, B and C were analyzed using neutralization titulometry. We added 5 mL of wine in Erlenmeyer, 30 mL of distilled water and 1 mL of bromothymol blue indicator solution and proceeded with the titration against a standardized sodium hydroxide solution (NaOH 0.0987 mol.L<sup>-1</sup>), until the change of color from brownish red to greenish blue. The analyses were performed in triplicate for each wine brand, with mean and standard deviation calculations for each sample. Red wines A, B and C had 74; 84.6 and 108.6 mEq.L<sup>-1</sup>, respectively of tartaric acid. The data are in agreement with the literature, considering that the lower the volume of NaOH spent on titration, the lower the acidity index. The three wine brands analysed comply with the quality standards established by the Ministry of Agriculture. In which it recommends a maximum tartaric acid content of 130 mEq.L<sup>-1</sup>. Through the methodology applied, it is concluded that the three wine brands evaluated have an acidity index lower than the maximum content accepted by the Ministry in force, thus indicating their compliance with the proposed quality standards.

**KEYWORDS:** Red wines; Tartaric acid; Neutralization titulometry.

## 1 | INTRODUÇÃO

O vinho é uma bebida alcoólica proveniente do processo de fermentação do suco, ou do sumo obtido com prensagem de uva saudáveis frescas e maduras. Essas características atribuídas às frutas, bem como, os métodos utilizados para o seu

processamento são fundamentais para garantir a boa qualidade do vinho final, qual é constituído principalmente por substâncias como açúcares, álcool, ácidos orgânicos, compostos fenólicos e aromáticos. Dentre os variados tipos encontrados no mercado a exemplo do branco, rose, espumante e tinto, este último é um dos tipos de vinho que possui maior destaque (RITSCHHEL; SEBBEN, 2010; DE MORAES; LOCATELLI, 2012; SIOCHETTA, 2018).

A produção dos vinhos se inicia com a colheita, recepção, armazenamento e prensagem das uvas. A partir disso, o sumo obtido desta prensagem é levado para compartimentos de fermentação onde ocorrerá o processo biológico fermentativo, qual é caracterizado pela conversão dos açúcares presentes na própria fruta em produtos como o etanol, através do intermédio de microrganismos. Todo o processo de fermentação é devidamente controlado e acontece em condições ideais que irão garantir a produção de vinhos de boa qualidade e o seu respectivo enquadramento dentro dos parâmetros químicos quais posteriormente serão submetidos a análise (CAMPOS; FERNANDO; OLIVEIRA, 2008; FERREIRA; ROSINA; MOCHIUTTI, 2010).

A acidez de um vinho é um importante parâmetro a ser analisado, podendo este fornecer indícios de sua qualidade além de estar associado ao sabor da bebida. Um dos principais ácidos presentes no vinho é o ácido tartárico o qual provém das uvas que são sua matéria prima. Sendo este um fator fundamental na determinação do pH do vinho (FOGAÇA, DAUDT, DORNELES, 2007).

O ácido tartárico trata-se de um ácido orgânico, de formula estrutural  $C_4H_6O_6$ , que é sintetizado naturalmente pelas videiras, embora também possa ser sintetizado pela indústria (CHAVARRIA, *et al.*, 2008). Nas videiras, as concentrações de ácido tartárico podem sofrer significativa redução na presença de elevados níveis de potássio, pois, o ácido tartárico tende a sequestrar os íons potássio de modo a evitar que ocorra oxidação no meio (MANFROI, *et al.*, 2006), assim, a reação entre estes resulta na conversão do ácido em bitartarato de potássio, resultando na elevação do pH (MPELASOKA, *et al.*, 2003).

As uvas que possuam em sua composição elevadas concentrações de bitartarato de potássio não são consideradas ideais para vinificação, pois, um pH elevado causa instabilidade do meio e favorece condições mais adequadas para o crescimento microbiológico, embora esse fator também dependa do teor alcoólico do meio (OLIVEIRA, SOUZA, MAMEDE, 2011).

Atualmente existem diversos métodos que podem ser empregados para determinação da acidez em compostos ácidos, dentre eles podem ser citados: a gravimetria, coulometria e titulometria. Na presente pesquisa a metodologia aplicada foi à titulometria de neutralização, pois, esta apresenta vantagens como o baixo custo, eficácia, além de ser um método relativamente fácil e rápido em relação aos demais (SKOOG *et al.*, 2007).

A técnica baseia-se no emprego de um ácido ou uma base, onde, por meio deste,

juntamente com alguma substância que deve comportar-se como indicador, irá fornecer o teor de acidez do material analisado. O pH da amostra é calculado em função dos íons  $H^+$  ou  $OH^-$  presentes no meio, e o volume de ácido/base gasto para neutralizar o analito é essencial para definição do pH, uma vez que por meio desse é construída a curva de titulação que irá determiná-lo (SKOOG *et al.*, 2007).

Em suma, durante e após o processo de produção de vinhos faz-se necessário submeter o produto a uma série de testes e análises que serão responsáveis por informar aos consumidores sobre as características e a qualidade do vinho. Através da análise de parâmetros como o de acidez total, é possível verificar como este aspecto químico é capaz de provocar alterações e/ou interferir no sabor e odor do vinho. Baseando-se nisso, o objetivo deste trabalho é determinar o teor de acidez em três marcas de vinhos tintos comercializados na região de Irecê-BA no sentido de verificar se os mesmos se encontram dentro dos padrões mínimos estabelecidos pelo Ministério da Agricultura.

## 2 | METODOLOGIA

O presente estudo, fundamentou-se em verificar de modo quantitativo o teor de ácido tartárico em três amostras de vinhos de marcas distintas, ambos comercializados na região de Irecê – BA.

Na determinação de acidez dos vinhos, utilizou-se o método analítico titulometria de neutralização, isso devido a sua simplicidade, além de elevada precisão e exatidão. Este método é recomendado pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2005) e se baseia na titulação de neutralização (ácido/base) em que, por meio do ponto de equivalência (ocorre por meio da mudança de coloração), se dar o término da titulação e conseqüentemente os cálculos estequiométricos de índice de acidez (BACCAN *et al.*, 2013; HARRIS, 2011).

As três marcas de vinhos analisadas, foram designadas respectivamente como amostras A, B e C.

Partindo desse contexto, todas as análises foram realizadas no Laboratório Multidisciplinar da Faculdade Irecê (FAI) elaboradas em três etapas, representadas a seguir no diagrama (Figura 1).



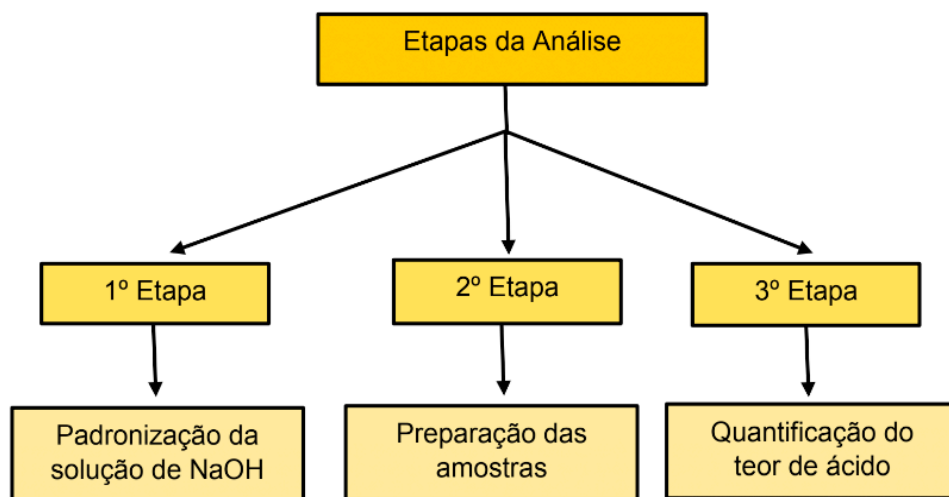


Figura 1: Etapas das análises realizadas neste trabalho.

A primeira etapa consistiu na padronização da solução de hidróxido de sódio (NaOH) a  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  com o reagente biftalato de potássio. A segunda embasou-se na preparação das amostras dos três vinhos e a terceira foi a quantificação do teor de ácido tartárico.

A padronização da solução de NaOH (Figura 2) foi realizada por meio de sua titulação com uma solução biftalato de potássio. O objetivo deste procedimento é encontrar a concentração real da solução de NaOH, já que este é considerado um reagente que absorve impurezas rapidamente.

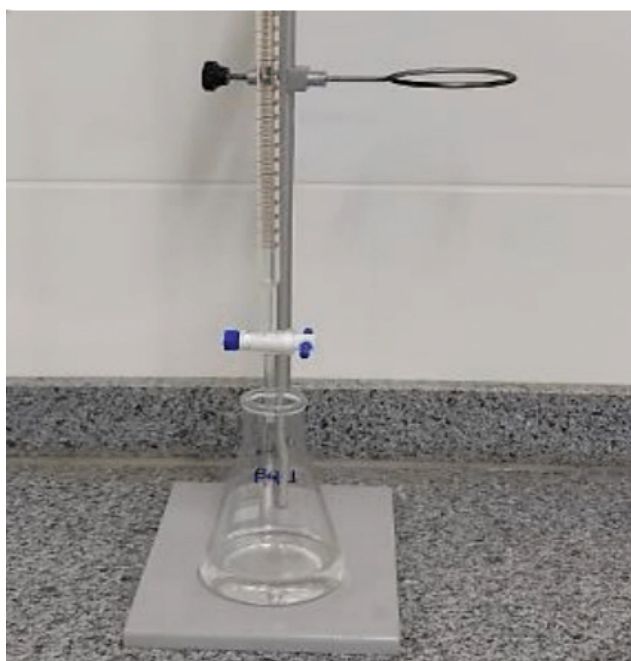


Figura 2: Titulometria de neutralização: Vidrarias (Erlenmeyer e bureta) e suporte universal utilizados na técnica.

Fonte:PRÓPRIA, 2019

A princípio, prepararam-se as soluções de NaOH e biftalato de potássio. Adicionou-



se fenolftaleína a 1 % à solução de NaOH (titulado) e iniciou-se a titulação desta solução contra uma solução de biftalato de potássio (titulante). Este procedimento foi realizado em triplicata (Figura 3).



Figura 3: Padronização de NaOH em triplicata empregando o biftalato de potássio como agente titulante.

Fonte:PRÓPRIA, 2019.

A reação de padronização do hidróxido de sódio contra a solução de biftalato de potássio é apresentada na Equação 1.



Através do método utilizado, a concentração real para o hidróxido de sódio encontrada foi de  $0,0987 \text{ mol.L}^{-1}$ . Por conseguinte, a solução padronizada foi utilizada na execução das titulações das amostras de vinhos estudadas.

Na etapa de preparação das amostras dos três vinhos, inicialmente, com o auxílio de uma pipeta volumétrica, adicionou-se 5 mL de vinho em erlenmeyer, seguida da adição de 30 mL de água destilada, solubilizando a mistura e por fim, foi adicionado 1 mL da solução indicadora de azul de bromotimol.

Em seguida, após homogeneização das amostras, iniciou-se as análises titulométricas feitas em triplicata para cada marca de vinho contra uma solução de hidróxido de sódio a  $0,0987 \text{ mol.L}^{-1}$ , em constante movimento até a verificação do ponto de equivalência, identificado pela mudança da coloração vermelho castanho para azul esverdeada (Figura 4 a, b).

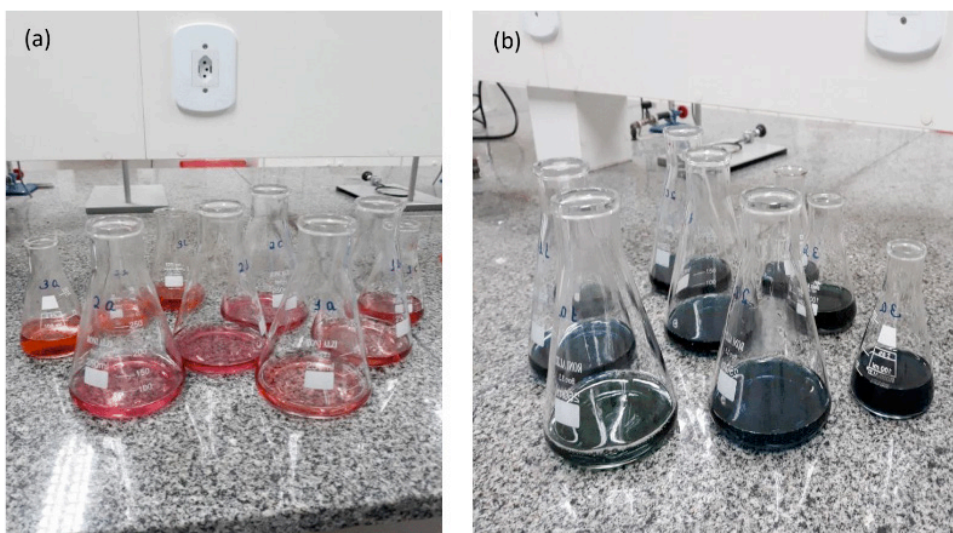


Figura 4: Amostras dos vinhos(A, B e C)antes da titulação (a) e depois da titulação (b).

Fonte:PRÓPRIA, 2019.

Mediante cálculos estequiométricos foi possível calcular a quantidade de ácido tartárico presente nas amostras analisadas em miliequivalentes por litro (mEq.L<sup>-1</sup>), por meio da Equação 1.

$$Acidez(mEq.L^{-1}) = \frac{V_{NaOH} \times N \times 1000}{v} \quad (1)$$

Em que:

$V_{NaOH}$  = volume da solução de NaOH gasto na titulação (mL);

N = normalidade da solução de NaOH;

v = volume da amostra (mL).

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos experimentos realizados via titulometria de neutralização das três marcas de vinhos comerciais (amostras A, B e C) estão apresentados na Tabela 1.

Amostras Analisadas	Média dos Volumes (mL) de NaOH gastos	Ácido Tartárico (mEq.L <sup>-1</sup> )
Marca A	3,7	74 ± 0,10
Marca B	4,2	84,6 ± 0,12
Marca C	5,7	108,6 ± 0,12

Tabela 1: Resultados das análises dos vinhos A, B e C.

Fonte: PRÓPRIA, 2020.

Os dados expostos na tabela 1, indicam o volume gasto de NaOH na titulometria

de neutralização e o teor de ácido tartárico em mEq por litro. Percebe-se que a média de volumes gastos de NaOH variou de 3,7 a 5,7 mL, para as amostras analisadas.

A marca de vinho A, consumiu em média 3,7 mL de NaOH sendo composta por 74 mEq.L<sup>-1</sup> de ácido tartárico, com desvio padrão de 0,10. Enquanto que a marca B, apontou ser integrada por 84,6 mEq.L<sup>-1</sup> e a marca C com 108,6 mEq.L<sup>-1</sup> de ácido tartárico, com desvio padrão de 0,12 para estas duas marcas.

Todas as amostras das marcas de vinhos A, B e C encontram-se dentro dos padrões mínimos estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio da Portaria nº 43, de 18 de maio de 2016, que define que o vinho de mesa, deve possuir acidez total de 40 mEq.L<sup>-1</sup> a 130 mEq.L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2016). Ou seja, todas as marcas estão dentro dos padrões para serem consumidas no quesito acidez. Análises físico-químicas mais detalhadas poderão ser realizadas, para que possam complementar estes resultados.

A Figura 5 apresenta os dados (graficamente) do percentual de ácido tartárico nas três marcas de vinhos analisadas.

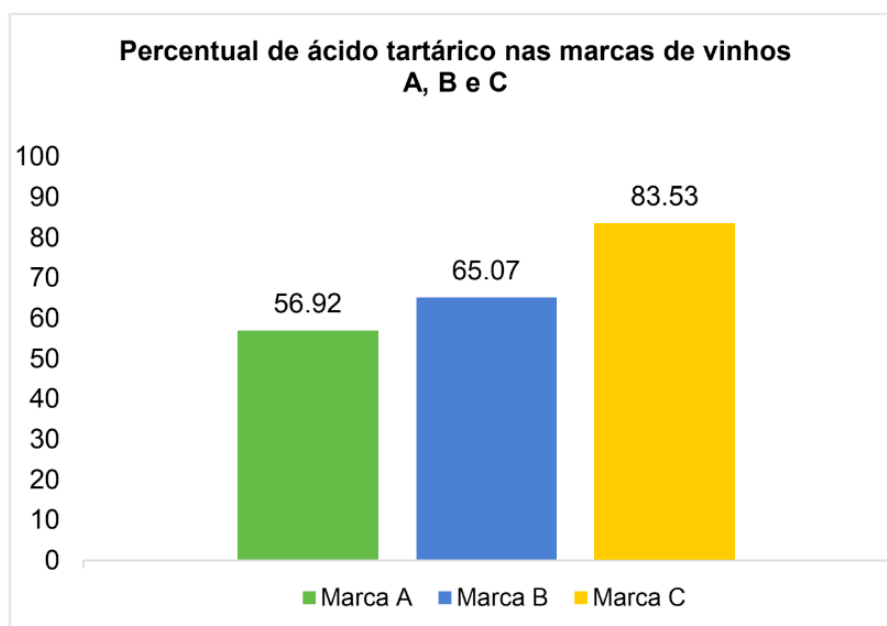


Figura 5: Percentual de Ácido Tartárico nas marcas A, B e C

As amostras de marcas A, B e C apresentaram cerca de 56,92; 65,07 e 83,53%, respectivamente, de ácido tartárico, quando comparamos com o limite máximo estabelecido pelo MAPA, 2016 que é de 130 mEq.L<sup>-1</sup>.

É de suma importância que o teor de acidez do vinho esteja dentro dos padrões estabelecidos, tendo em vista, que este é um parâmetro que pode acabar evitando a degradação do vinho, dando vivacidade a sua cor e garantindo a qualidade. O ácido tartárico é o ácido que influencia de modo determinante no pH e nas características sensoriais dos vinhos (RIZZON e MIELE, 2001).

Partindo disso, observa-se que o método utilizado exibiu boa qualidade reprodutível nas análises das amostras dos vinhos tintos manipulados, em que cada ensaio foi realizado em triplicata afim de minimizar prováveis erros de aplicação da metodologia analítica empregada.

## 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com o método empregado, constata-se que as três amostras analisadas se adequam aos padrões de qualidade estabelecidos pelo ministério vigente. Este parâmetro pôde ser identificado por meio do seu teor de acidez o qual mostrou-se inferior ao valor máximo pré-estabelecido por lei.

Desse modo, supõe-se que os vinhos que foram analisados são considerados adequados para o consumo humano, embora seja recomendado o emprego de análises mais detalhadas, uma vez que não há como garantir que as amostras não sofreram nenhuma alteração quando expostas a alguns fatores do meio onde se realizou a análise, como a temperatura, por exemplo.

## REFERÊNCIAS

BACCAN, N. et al. **Química analítica quantitativa elementar**. São Paulo: Edgard Blücher, 2013.

BRASIL, Ministério da Agricultura, **Instrução Normativa nº 24, de 08 de setembro de 2005**. Disponível em <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acessado em: 12 de abril de 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 43, de 18 de maio de 2016. **Submete o Projeto de Instrução Normativa e Anexo que aprovam a complementação dos padrões de identidade e qualidade do vinho e derivados da uva e do vinho e definem a classificação das variedades de uvas**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2016.

CAMPOS, M. A. M. M; FERNANDO, A. L; OLIVEIRA, J. F. dos S. **Segurança alimentar na produção de vinho branco, tinto e abafado–Estudo de caso da adega da Merceana**. Revista Lusófona De Humanidades E Tecnologias, Portugal. 2008.

CHAVARRIA, G.; SANTOS, H. P.; ZANUS, M. C.; ZORZAN, C.; MARODIN, G. A. B. **Physicochemical characterization of must and wine Moscato Giallo from grapevines grown under plastic overhead cover**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 43, n. 7, p. 911-916, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000700016>> Acesso em: 18 de abr. 2020.

DE MORAES, V.; LOCATELLI, C. **Vinho: Uma revisão sobre a composição química e benefícios à saúde**. ResearchGate, Evidência, Joaçaba v. 10 n. 1-2, p. 57-68, 2012.

FERREIRA, E. T. D.; ROSINA, C. D.; MOCHIUTTI, E. F. G. **Processo de produção do vinho fino tinto**. Anais do IV Encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial, Fecilcam, Campo Mourão, November, p. 17-19, 2010.

FOGAÇA, A. O.; DAUDT, C. E.; DORNELES, F. **Potássio em uvas II – Análise peciolar e sua correlação com o teor de potássio em uvas viníferas**. Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos. Campinas, v. 27, n. 3, 597–601, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n3/a26v27n3>> Acesso em 19 abr. 2020.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4ª ed., 1ª Ed. Digital, São Paulo: 2008.

MANFROI, L.; MIELE, A.; RIZZON, L. A.; BARRADAS, C. I. N. **Composição físico-química do vinho Cabernet Franc proveniente de videiras conduzidas no sistema lira aberta**. Ciência e tecnologia dos alimentos. Campinas, v. 26, n. 2, p. 290-296, abr. 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000200010>> Acesso em: 19 abr. 2020.

MPELASOKA, B. S.; SCHACHTMAN, D. P.; TREEBYTREEBY, M.T.; THOMAS, M. R. **Review of potassium nutrition in grapevines with special emphasis on berry accumulation**. Australian Journal of Grape and Wine Research. Austrália, v.9, n.3, p.154-168, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2003.tb00265.x>> Acesso em: 18 abr. 2020.

OLIVEIRA, L. C. SOUZA, S. O. MAMEDE, M. E. O. **Avaliação das características físico-químicas e colorimétricas de vinhos finos de duas principais regiões vinícolas do Brasil**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 158-167, jun. 2011. Disponível em: <[http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0073-98552011000200009&lng=pt&nrm=iso](http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552011000200009&lng=pt&nrm=iso)> Acesso em: 18 abr. 2020.

RITSCHER, P. S.; SEBEN, S. de S. **Embrapa Uva e Vinho: novas cultivares brasileiras de uva**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010.

SIOCHETTA, T. M. **Compostos antioxidantes do vinho e seus benefícios para a saúde**. Revista saúde integrada, v. 11, n. 22, p. 38-46, 2018.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos da Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Thomson, 2007.

## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E EM NÍVEL CELULAR DE *HIBISCUS SABDARIFFA* L. (MALVACEAE)

Data de aceite: 05/06/2020

### Joyce Bezerra Guedes

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9585080602890413>

### Andreza Larissa do Nascimento

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1159276582635745>

### Maria Eduarda de Sousa E Silva

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5359819852210219>

### Thais Maria Sousa Andrade

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7893278135913880>

### Maria do Socorro Meireles de Deus

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0231968397617981>

### Ana Paula Peron

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-  
UTFPR, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3605560420792065>

### Ana Carolina Landim Pacheco

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4031662027454518>

### Márcia Maria Mendes Marques

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1673578415957204>

**RESUMO:** As flores de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) são amplamente utilizadas como diurético, para tratamento de desordem gastrointestinal, infecções hepáticas, febre, hipertensão e antioxidante. Medicamentos para uso interno, tais como os produzidos da flor de *H. sabdariffa* são aditivados por excipientes químicos durante a industrialização. Com base nisso, o objetivo do trabalho foi avaliar a citotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade e toxicidade aguda das flores de *H. sabdariffa*, nas formas não aditivada (desidratada e em pó) e aditivadas. Foi utilizado como sistemas testes os bioensaios de *Allium cepa* e *Artemia salina*. O teste em *A. cepa* mostrou que o chá das flores desidratadas de *H. sabdariffa* e o produto industrializado pertencente ao fabricante A não apresentaram citotoxicidade e quando expostos a substância clastogênica ocasionou um efeito protetor de danos e antimutagênico. O produto do fabricante B, mostrou-se citotóxico aos meristemas de *A. cepa* e associado a substância clastogênica potencializou seu



efeito antiproliferativo, demonstrando também ação mutagênica. A avaliação da toxicidade aguda frente ao bioensaio *Artemia salina* mostrou que as concentrações de *H. sabdariffa* natural não apresentaram toxicidade e os produtos A e B apresentaram toxicidade. Esses resultados apontam que a planta pode ser utilizada pela população para fins medicinais, sendo necessário cuidado ao consumi-la na forma industrializada.

**PALAVRAS-CHAVE:** Plantas medicinais, genotoxicidade, *Artemia salina*, *Allium cepa*, compostos químicos excipientes.

## EVALUATION OF ACUTE AND CELLULAR TOXICITY OF HIBISCUS SABDARIFFA L. (MALVACEAE)

**ABSTRACT:** The flowers of *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) has widely used as a diuretic, for the treatment of gastrointestinal disorders, liver infections, fever, hypertension and antioxidants. Medicines for internal use, such as developed from the *H. sabdariffa* flower during industrialization are added by chemical excipient. Therefore the aim of this study was to evaluate the cytotoxicity, genotoxicity, mutagenicity and acute toxicity of *H. sabdariffa* flowers, in non-additive (dehydrated and powdered) and additive forms. Two bioassays were performed: *Allium cepa* and *Artemia salina*. In *A. cepa*, flower in tea of *H. sabdariffa* and product industrialized (A) were not cytotoxicity and when associated to clastogenic substance showed a protective effect and antimutagenic. The product industrialized B were cytotoxic to the meristemas of *A. cepa* and associated to the clastogenic substance its potentiated antiproliferative effect, also showing mutagenic action. The evaluation of acute toxicity against *A. salina* from flower in tea of *H. sabdariffa* were not toxicity and products industrialized (A and B) were toxicity. These results suggest that the plant of *H. sabdariffa* can be used for medicinal purposes, and for consuming in industrialized form is care needed.

**KEYWORDS:** Medicinal plants, genotoxicity, *Artemia salina*, *Allium cepa*, excipient chemical

## 1 | INTRODUÇÃO

A *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) é uma planta originária da Índia, Sudão e Malásia, utilizada na prevenção e terapia alternativa de diversas patologias, principalmente no tratamento contra excesso de peso (MUKHTAR, 2007). Suas flores são amplamente utilizadas como diurético, para tratamento de desordem gastrointestinal, infecções hepáticas, febre, hipertensão e antioxidante (VIZZOTTO; PEREIRA, 2008). Apresentam elevadas concentrações de compostos fenólicos, ácidos orgânicos, esteroides, terpenóides, polissacarídeos e minerais. Dentre os compostos fenólicos, as antocianinas glicosiladas são as mais abundantes e consideradas os principais constituintes bioativos desta planta (JABEUR *et al.*, 2017).

Medicamentos produzidos a partir da flor de *H. sabdariffa* são aditivadas por compostos químicos excipientes durante a industrialização (PESSANHA *et al.*, 2012). No

entanto, a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) alerta que estes aditivos provocam muitos questionamentos quanto aos seus potenciais efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos (BRASIL, 2007).

Entre os diferentes testes que avaliam a citotoxicidade de compostos, o uso de meristemas de raízes de *Allium cepa* L. é considerado um eficiente teste para o *screening* preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade de compostos químicos. O teste de *Allium cepa* é considerado uma ferramenta útil para a pesquisa básica do potencial genotóxico e citotóxico de produtos químicos, substâncias complexas como extratos de plantas, dejetos industriais e águas contaminadas (CUCHIARA *et al.* 2012). Dessa forma, torna-se relevante avaliar, por meio de bioensaios de avaliação de toxicidade usando *A. cepa*, a citotoxicidade e genotoxicidade das flores de hibisco e assim, garantir segurança para quem utiliza essas flores para tratar problemas de saúde

Outro bioensaio, importante e eficaz na identificação de compostos bioativos, bem como toxicidade aguda de compostos naturais, é o que utiliza *Artemia salina* Leach, (1819). Por ser considerado um teste rápido e eficiente, é muito utilizado em estudos para determinação do potencial toxicológico de plantas.

Nesse contexto, objetivou-se avaliar a toxicidade aguda e a citotoxicidade; a genotoxicidade e mutagenicidade das flores de *H. sabdariffa* nas formas natural e industrializada, bem como investigar seu efeito antimutagênico frente à substância clastogênica paracetamol a 400mg/L.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção de *H. sabdariffa*

As flores de *H. sabdariffa* desidratadas foram adquiridas em ervanário na cidade de Teresina, Piauí, Brasil, especializado na comercialização de produtos naturais. As flores em pó na forma industrializada foram obtidas em uma farmácia do município de Picos, Piauí, Brasil. Os produtos industrializados oriundos de dois laboratórios farmacêuticos (LF) foram identificados como A e B.

### 2.2 Teste em *Allium cepa*

#### 2.2.1 Concentrações e grupos tratamentos

Para determinação das concentrações de *H. sabdariffa*, foi utilizado como parâmetro a forma de preparo indicada nos rótulos de cada produto. Para o preparo da infusão de chá (extrato aquoso) foram utilizadas 20 gramas das flores desidratadas para um litro de água fervente, definindo-se para estudo as concentrações: 0,02; 0,04 e 0,08 g.mL. Em



relação aos produtos industrializados referentes aos laboratórios A e B, a concentração sugerida nos rótulos é de 10 gramas de hibisco em pó para 200 mL de água e assim, as concentrações foram: 0,05; 0,1 e 0,2 g.mL. A solução clastogênica utilizada foi preparada com 400mg de paracetamol em 1 litro de água (0,4 mg.ml<sup>-1</sup>), (PINHO *et al.*, 2010). Neste estudo foram usados os seguintes tratamentos: Controle negativo – somente água destilada; Controle positivo – água destilada associada a paracetamol a 0,4 mg.ml<sup>-1</sup>; Chá – flores desidratadas, extrato aquoso nas concentrações de 0,02; 0,04 e 0,08 g.mL<sup>-1</sup>; Produto A – forma industrializada do fabricante A, extrato aquoso nas concentrações de 0,05; 0,1 e 0,2 g.mL; Produto B – forma industrializada do fabricante B, extrato aquoso nas concentrações de 0,05; 0,1 e 0,2 g.mL; Tratamento simultâneo – extrato aquoso (flores desidratadas e forma industrializada- A e B) associado com paracetamol nas concentrações anteriormente descritas.

### 2.2.2 Obtenção das células meristemáticas das raízes de *A. cepa*

Bulbos de cebola foram colocados em frascos aerados com água destilada, à temperatura ambiente ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ ), até a obtenção de raízes de 2,0 cm de comprimento. Para análise de cada amostra (tratamento) foi estabelecido um grupo experimental com cinco bulbos de cebola. Antes de colocar as raízes em contato com a suas respectivas amostras, algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle do próprio bulbo. Em seguida, as raízes restantes foram postas em seus respectivos tratamentos por 24 horas, sendo este procedimento denominado de tempo de exposição 24 horas.

Após 24 horas, algumas raízes foram tiradas e fixadas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas a seus respectivos tratamentos onde permaneceram por mais 24 horas, o que se denominou de tempo de exposição 48 horas. Após este período, raízes novamente foram coletadas e fixadas. Os tempos de exposição 24 e 48 horas foram escolhidos com o intuito de avaliar a ação de *H. sabdariffa* desidratado e industrializado em mais de um ciclo celular. A fixação das raízes se deu em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Em cada coleta, retirou-se, em média, três raízes por bulbo.

### 2.2.3 Preparação e análise das lâminas

As lâminas, 03 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 400x. Para cada cebola utilizada foi analisado 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada controle, tempo de exposição 24 horas e tempo de exposição 48 horas de todo tratamento em análise. Assim, para cada concentração da planta analisou-se um total de 15.000 células.

Para a avaliação da citotoxicidade dos produtos de *H. sabdariffa* foram observadas e

apurado o número de células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. A partir desta análise determinou-se o índice mitótico (IM) por meio da seguinte equação: (número total de células em mitose / número total de células analisadas) x 100. A genotoxicidade foi avaliada através da frequência de alterações de fuso mitótico e a mutagenicidade por meio do número de micronúcleos observados.

## 2.3 Bioensaio em *Artemia salina*

### 2.3.1 Preparação das concentrações

Foram usados 100 mg das flores desidratadas e dos produtos industrializados referentes aos laboratórios A e B de *H. sabdariffa* para 100 ml de solução de sal marinho sintético. As soluções obtidas foram mantidas em constante agitação para completa homogeneização. Ao final do processo obteve-se uma concentração de 1000 mg.L<sup>-1</sup> de cada produto. A partir dessa concentração, foram realizadas diluições seriadas e obteve-se as concentrações de 500 mg.L<sup>-1</sup>, 250 mg.L<sup>-1</sup>, 125 mg.L<sup>-1</sup> e 62,5 mg.L<sup>-1</sup>. O controle foi preparado utilizando apenas solução salina para ter certeza de que a morte dos náuplios seria provocada pela toxicidade dos compostos, e não por falta de algum recurso durante a realização do teste. Os testes foram realizados em triplicata.

### 2.3.2 Eclosão dos cistos de *A. salina*

O teste de toxicidade frente *A. salina* foi realizado segundo o protocolo proposto por Meyer *et al.*, (1982) e Lima *et al.*, (2018), com modificações. Inicialmente, pesou-se 30 g de sal marinho e diluiu-se em 1L de água potável para o preparo da água salina, usada para a eclosão dos cistos e preparo das diluições. A água foi mantida à temperatura ambiente, sob agitação e aeração constante, com recepção de luz artificial de 100 W, em equipamento fabricado de garrafa pet e acrescentado 0,3g de cistos de *A. salina*, que permaneceram por um período de 48 horas até a eclosão dos náuplios (larvas).

### 2.3.3 Avaliação da toxicidade frente *A. salina*

Após a eclosão dos cistos, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, as larvas de microcrustáceos (n=10) foram transferidas para os tubos nos quais estavam presentes os extratos em diferentes concentrações (Figura 5). Os tubos foram deixados em temperatura ambiente e sob iluminação por 24 horas. Após esse período, foram contados o número de náuplios vivos e mortos. Só foram considerados válidos os testes nos quais o controle apresentou uma mortalidade igual ou inferior a 10% da população.

## 2.4 Análise dos dados

Para a análise estatística dos resultados obtidos no teste de toxicidade em *A. cepa* foi utilizado o teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ),  $p < 0.05$ . Em relação ao bioensaio frente a *A. salina*, foi calculada a porcentagem de mortes em cada concentração e controle. Através de regressão linear foi determinada a  $CL_{50}$  obtida da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração dos extratos aquosos.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Testes em *Allium cepa*

A partir dos resultados demonstrados na Tabela 1, verificou-se que as três concentrações de chá das flores de *H. sabdariffa* e do produto A, em 24 e 48 horas, não causaram redução da divisão celular nos meristemas de raízes de *A. cepa* quando comparados aos seus respectivos controles ( $p < 0.05$ ), não sendo considerados citotóxicos. No entanto, nas três concentrações do produto B, em 24 e 48 horas, houve significativa redução da divisão celular dos meristemas de raízes ( $p < 0.05$ ).

<i>Hibiscus sabdariffa</i>	TR (mg/mL <sup>-1</sup> )	TE/IM		
		0 h	24 h	48 h
Chá	0,02	18,2	19,6	16,7
	0,04	15,3	16,8	13,5
	0,08	16,5	17,5	14,3
Produto A	0,05	17,0	16,1	15,2
	0,1	17,8	15,3	15,0
	0,2	19,7	17,5	14,3
Produto B	0,05	21,2	5,0*	3,4*
	0,1	19,9	9,5*	5,4*
	0,2	18,7	7,3*	4,8*

Tabela 1 – Índices mitóticos observados em tecidos meristemáticos de raízes de *Allium cepa* expostos por 24 e 48h a três concentrações de chá das flores de *Hibiscus sabdariffa* forma desidratada e dois produtos industrializados (A e B). Para cada tratamento foram apresentados os valores significativos de  $\chi^2$ .

TE: tempo de exposição; IM: índice mitótico; TR: tratamento. Valores seguidos de asteriscos diferem significativamente pelo teste  $\chi^2$  ao nível de 5%. Fonte: Autora (2019).

Nas Tabelas 2 e 3 são apresentados o número de células em interfase e em

diferentes fases da divisão celular, e os valores de índice mitóticos obtidos a partir de células meristemáticas de raízes de *A. cepa* analisados no tratamento simultâneo, controle negativo e controle positivo de chá das flores desidratadas de *H. sabdariffa* e produto industrializado do fabricante A.

C (g/ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,02	CN	4280	512	103	61	44	720	16,82
	24h	4304	484	101	65	46	696	16,17
	48h	4403	401	110	47	39	597	13,55
	CP	4478	389	86	32	15	522	10,44
0,04	CN	4223	589	86	61	41	777	18,39
	24h	4296	534	73	51	46	704	16,38
	48h	4311	492	93	49	55	689	15,98
	CP	4413	420	90	42	35	587	11,74
0,08	CN	4291	526	64	58	61	709	16,52
	24h	4322	497	67	60	54	792	15,68
	48h	4341	460	71	62	66	659	15,18
	CP	4470	389	62	43	36	530	10,60

Tabela 2: Número de células indiferenciadas e em interfase, número de células em divisão e valores de índice mitótico obtido para as células-raiz de *A. cepa* dos tratamentos: controle negativo, controle positivo e tratamento simultâneo nas concentrações 0,02; 0,04 e 0,08 mg/mL<sup>-1</sup> de chá das flores desidratadas de *H. sabdariffa*.

TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em divisão; P – Prófase; M – Metáfase; A – Anáfase; T – Telófase. Valores seguidos de asteriscos diferem significativamente pelo teste  $\chi^2$  dos valores obtidos para o seu respectivo controle negativo. Fonte: Autora (2019).

C (g/ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,05	CN	4388	407	81	52	72	612	12,24
	24h	4434	402	116	8	40	566	11,32
	48h	4371	456	124	12	37	629	12,58
	CP	4475	406	72	21	26	525	10,50
0,1	CN	4262	557	86	51	44	738	14,76
	24h	4321	502	83	53	41	679	13,58
	48h	4358	490	79	38	35	642	12,84
	CP	4503	382	63	30	22	497	9,94
0,2	CN	4268	604	50	41	37	732	14,64
	24h	4288	521	83	57	51	712	14,24
	48h	4359	496	60	49	36	641	12,82
	CP	4523	320	63	51	43	477	9,54

Tabela 3: Número de células indiferenciadas e em interfase, número de células em divisão e valores de índice mitótico obtido para as células-raiz de *A. cepa* dos tratamentos: controle negativo, controle positivo e tratamento simultâneo nas concentrações 0,02; 0,04 e 0,08 mg/mL<sup>-1</sup> de *H. sabdariffa* industrializado pertencente ao fabricante A.

TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CN – Controle

negativo; CP – Controle positivo; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em divisão; P – Prófase; M – Metáfase; A – Anáfase; T – Telófase. Valores seguidos de asteriscos diferem significativamente pelo teste  $\chi^2$  dos valores obtidos para o seu respectivo controle negativo. Fonte: Autora (2019).

A partir dos resultados descritos nas Tabelas 2 e 3, observou-se que os índices de divisão celular obtidos no tratamento simultâneo, para os tempos de exposição de 24 e 48 horas do chá e produto industrializado do fabricante A, não diferiram estatisticamente entre si quando comparadas ao controle e, portanto, não potencializaram o efeito antiproliferativo provocado pela substância clastogênica, diminuindo dessa forma, o efeito citotóxico induzido pela mesma.

Na Tabela 4 são apresentados os índices mitóticos obtidos para os tratamentos controle negativo, controle positivo e tratamento simultâneo e produto industrializado do fabricante B. Observa-se que o índice de divisão celular nos tempos de exposição de 24 e 48 horas das três doses do tratamento simultâneo apresentam diferenças significativa dos seus respectivos controles, sugerindo uma potencialização do efeito antiproliferativo ocasionado pela substância clastogênica sendo, portanto, citotóxico.

C (g/ml)	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
0,05	CN	4100	566	145	89	100	900	21.95
	24h	4341	486	77	21	75	659	13.18*
	48h	4257	536	104	23	80	743	14.86*
	CP	4336	521	73	39	31	664	13,28
0,1	CN	4096	683	96	69	56	904	22.07
	24h	4109	622	150	32	87	891	17.82*
	48h	4228	632	93	9	38	772	15.44*
	CP	4216	612	85	31	56	784	15,68
0,2	CN	4000	813	74	54	59	1000	25
	24h	4362	513	64	10	51	638	14.62*
	48h	4253	564	79	38	66	747	17.56*
	CP	4219	556	102	75	48	781	15,62

Tabela 4: Número de células indiferenciadas e em interfase, número de células em divisão e valores de índice mitótico obtido para as células-raiz de *A. cepa* dos tratamentos: controle negativo, controle positivo e tratamento simultâneo nas concentrações 0,02; 0,04 e 0,08 mg/mL<sup>-1</sup> de *H. sabdariffa* industrializado pertencente ao fabricante B.

TCII – Total de células em interfase e indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em divisão; P – Prófase; M – Metáfase; A – Anáfase; T – Telófase. Valores seguidos de asteriscos diferem significativamente pelo teste  $\chi^2$  dos valores obtidos para o seu respectivo controle negativo. Fonte: Autora (2019).

Índices mitóticos significativamente inferiores aos índices dos seus respectivos controles, como os obtidos para o produto B no tratamento simultâneo (Tabela 4),

podem indicar a presença de agentes cuja ação tóxica compromete o crescimento e o desenvolvimento dos organismos expostos. Quando ocorre a inibição da proliferação celular ocasionada por compostos citotóxicos em tecidos de intensa proliferação celular e que apresentam desempenho normal, causam enormes prejuízos ao organismo, inibindo ou limitando a reposição de células, interferindo na produção de proteínas o que pode resultar no mau funcionamento do órgão onde está localizada (HERRERO *et al.*, 2012). A inibição da divisão em tecidos normais é extrema, deve-se principalmente a ação de agentes que interferem na integridade e correto funcionamento do fuso nuclear durante a mitose, ocasionando um desarranjo cromossômico considerável (SALES *et al.*, 2016).

Os resultados mostram que os índices mitóticos obtidos para os tratamentos simultâneos, nas concentrações analisadas e nos tempos de exposição avaliados do produto A, não apresentaram diferenças estatísticas significativas para os seus respectivos controles negativos. Dessa forma, o produto avaliado nessas condições de estudo, não inibiu a divisão celular e, portanto, não potencializou o efeito antiproliferativo ocasionado pelo paracetamol. Considerando a ação ocasionada por essa substância, o produto A agiu como um protetor das alterações no ciclo celular ocasionado por ela, modulando os danos que a mesma causa. Quanto aos resultados referente ao produto B, nas três concentrações e nos dois tempos de exposição, 24 e 48 horas, observa-se que os índices mitóticos apresentam diferenças estatísticas em relação ao controle negativo. Essas diferenças apontam para uma ação potencializadora do efeito antiproliferativo ocasionado pelo paracetamol, aumentando dessa forma, a citotoxicidade provocada pelo composto mutagênico, e descartando, portanto, um possível efeito protetor por parte do produto B.

De acordo com Sales *et al.* (2016), levando em consideração que o princípio celular é formar novas células iguais a célula-mãe, produzir células com alterações na estrutura, ou apresentando distorções no número de cromossomos, interferem no funcionamento celular, tornando a mesma inviável, tendo como consequência a sua eliminação dos tecidos que apresentam desempenho normal, podendo dessa forma, acarretar efeito antiproliferativo significativo. A substância clastogênica tem como característica a capacidade de interferir no ciclo celular, ocasionando efeitos antiproliferativos, bem como alterações a nível de cromossomos. Portanto, condições desse tipo, em que há a associação de uma substância clastogênica com produtos adicionados de compostos excipientes, que também possui uma grande capacidade de inibir a divisão celular, podem ser usadas para explicar os resultados de citotoxicidade e potencialização do efeito clastogênico causado pelo paracetamol, no produto industrializado pertencente ao fabricante B, em seu tratamento simultâneo.

Em uma comparação entre as alterações celulares obtidas para os tratamento controle negativo, controle positivo e simultâneo, observadas em ambos os produtos A e B, nos diferentes tempos de exposição. Os resultados mostraram que o produto A em associação com *H. sabdariffa*, nas diferentes concentrações, o número de alterações



cromossômicas não apresenta diferença significativa quando comparada aos seu respectivo controle negativo. Portanto, considerando as condições estudadas, pode se sugerir um efeito antimutagênico das concentrações de *H. sabdariffa* do produto A frente a ação da substância clastogênica, tendo em vista que o mesmo impediu o aumento do número de aberrações cromossômicas observadas, após a exposição a esse composto. Diferentemente do produto B, que nas diferentes concentrações, apresentou número de alterações nos tempos de exposição de 24 e 48 horas, significativamente maiores das apresentadas em seu respectivo controle negativo, mantendo dessa forma o efeito mutagênico causado pelo paracetamol.

Na avaliação das alterações celulares obtidas para o chá das flores desidratadas de *H. sabdariffa*, os resultados mostraram que, assim como nos resultados observados no produto A, o índice mitótico de cada concentração analisada, nos diferentes tempos de exposição, não apresentam diferenças significativas quando comparados aos seus respectivos controles negativo, dessa forma, pode-se afirmar que a infusão de chá de hibisco, obtido das flores naturais, além de agir como modulador de danos celulares, apresenta também efeito antimutagênico às raízes de *A. cepa* expostas a substância clastogênica.

### 3.2 Bioensaio com *Artemia salina*

Foram obtidas as médias e desvio padrão da porcentagem de náuplios mortos, frente as concentrações de 1000, 500, 250, 125 e 62,5 mg.L<sup>-1</sup>, do chá das flores desidratadas de *H. sabdariffa* e produtos A e B industrializado. Utilizando esses dados, foi gerada uma reta de regressão linear no programa Excel que gerou uma equação da reta ( $y=ax+b$ ), sendo possível determinar a CL<sub>50</sub> (concentração letal capaz de provocar a mortalidade de 50% dos náuplios).

Testes que avaliam a toxicidade são elaborados com o intuito de avaliar possíveis efeitos causados pelo uso de compostos que contém em sua constituição, substâncias tóxicas, que podem desencadear efeitos contrários aos esperados, nos sistemas biológicos (BAROSA, 2003). Trata-se de bioensaios bastante utilizados em estudos de substâncias que possuem atividade biológica, com o objetivo de avaliar interações que essas substâncias podem ter no organismo. Dentre estes ensaios biológicos, o teste utilizando o microcústacio *A. salina* é bastante eficaz na determinação de compostos bioativos, principalmente em extratos de plantas (MEYER *et al.*, 1982; NOLDIN *et al.*, 2003), na avaliação da toxicidade e atividade inseticida (LEITE *et al.*, 2009), possuindo uma boa correlação com outros testes que avaliam toxicidade oral aguda *in vivo* (PARRA *et al.*, 2001).

A Figura 4, apresenta a reta de regressão linear, obtida por meio da correlação entre a concentração de *Hibiscus sabdariffa*, industrializado e natural na forma de flores desidratadas, e o percentual de letalidade de *Artemia salina*. A título de adequação, alguns



valores extremos da concentração em estudo, foram retirados.

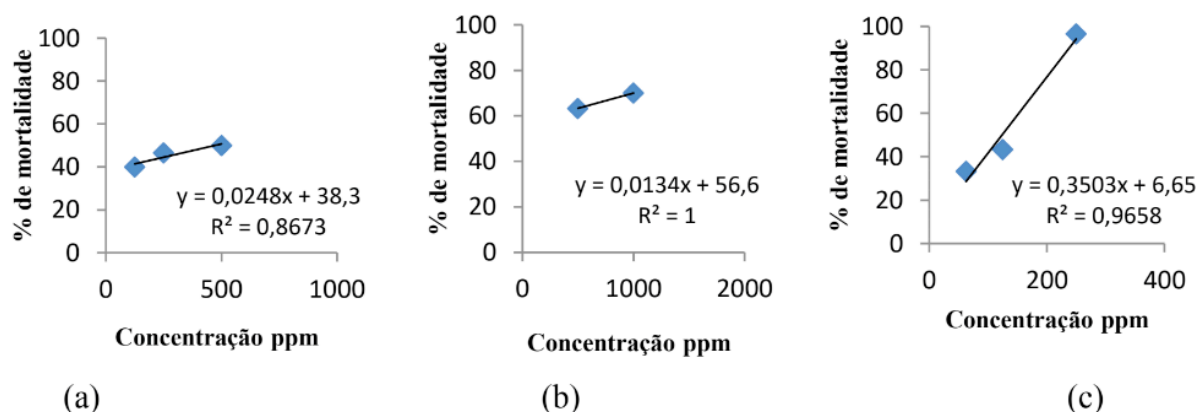


Figura 4: Retas de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de *A. salina* versus a concentração do *H. sabdariffa* pertencente ao (a) chá, (b) fabricante A e (c) fabricante B.

Meyer *et al.*, (1982), afirma que em avaliações de toxicidade de compostos ativos, utilizando *A. salina* que apresentarem o valor da  $CL_{50}$  inferior a  $1000 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$  considera-se esse composto como tóxico. Para o produto industrializado pertencente ao fabricante A não foi possível determinar a  $CL_{50}$ , pois ficou abaixo da menor concentração testada, ou seja  $CL_{50} < 62,5 \text{ ppm}$ . Obteve-se  $CL_{50} = 123,75 \text{ ppm}$  para o produto B e  $CL_{50}$  de  $417,7 \text{ ppm}$  para o chá. De acordo com Dolabela (1997), compostos que possui uma  $CL_{50} < 80 \text{ mg.L}^{-1}$ , são tidos como altamente tóxicos, os que apresentam  $CL_{50}$  entre  $80 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $250 \text{ mg.L}^{-1}$ , são considerados moderadamente tóxicos e com um  $CL_{50} > 250 \text{ mg.L}^{-1}$ , possuem baixa ou nenhuma toxicidade. Levando em consideração os parâmetros apresentados, os resultados mostram que o *H. sabdariffa* industrializado pertencente aos fabricantes A e B, apresentam moderada toxicidade. A infusão de chá apresenta baixa ou nenhuma toxicidade frente ao bioensaio com *A. salina*. Segundo Santos; David; David (2011), um valor de  $CL_{50} < 1000 \text{ mg.L}^{-1}$  indica que esses produtos apresentam compostos biologicamente ativos.

Estudos iniciais de avaliação toxicológica com *A. salina* são bastante realizados, justamente pelo fato de sua eficácia como teste inicial, ser comprovada, quando submetidos a análises posteriores. Essa eficácia dá segurança aos testes de toxicidade preliminar realizados com esse bioensaio, pois asseguram os resultados obtidos, fornecendo confiabilidade a estudos como esse

## 4 | CONCLUSÃO

Nas condições estudadas, as concentrações de *Hibiscus sabdariffa* analisadas na forma natural e industrializada, pertencente ao fabricante A, não apresentaram citotoxicidade frente *A. cepa* e quando expostos simultaneamente apresentaram efeito protetor de danos causados por essa substância demonstrando ação antimutagênica,

controlando de forma eficaz tanto o efeito inibidor da divisão celular como as alterações a nível cromossômico. O produto industrializado do fabricante B mostrou citotoxicidade e quando associado ao paracetamol potencializou o efeito citotóxico e mutagênico, induzindo um alto efeito antiproliferativo. A avaliação da toxicidade frente ao bioensaio com *A. salina*, mostrou que as concentrações de *H. sabdariffa* testadas, na forma natural não apresentaram toxicidade, e os produtos industrializados A e B apresentaram toxicidade. Portanto, esses resultados apontam que a planta pode ser utilizada pela população para fins medicinais, porém é necessário um pouco de cuidado ao consumi-la na forma industrializada, tendo em vista que alguns compostos excipientes adicionados ao produto, no processo de industrialização, podem ser responsáveis pelo aumento da toxicidade desses produtos

## REFERÊNCIAS

AHMED, Z. S.; ABOZED, S. S. **Functional and antioxidant properties of novel snack crackers incorporated with *Hibiscus sabdariffa* by-product.** J. Adv. Res., jan, 2015.

ALVES, T. M. A. *et al.* **Biological screening of Brazilian medicinal plants.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 95, n.1, p. 367-373, may, 2000.

ANCIA, J. P.; ROMÃO, N. F. **Análise da atividade citotóxica e mutagênica do extrato aquoso das partes aéreas de *Uncaria tomentosa* em teste de *Allium cepa*.** South American Journal of Basic Education, Technical and Technological. Paraná/RO, v. 3, n. 2, dez, 2016.

ARAUJO A. C. F.; BORIN M. F. **Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos.** Revista. Brasília Med, Brasília, v. 49, n. 4, p. 267-278, may, 2012.

ARNOUS, A. H, SANTOS, A.S, BEINNER, R. P. C. **Plantas medicinais de uso caseiro- conhecimento popular e interesse pelo cultivo comunitário.** Espaço saúde, v. 6, n. 2, p. 01-06, jun, 2005.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A.M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia.** 1ª ed. São Carlos: Rima, 2003.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. **Uso do sistema teste *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, n. 3, p. 444-447, set, 2007.

BAROSA, J., FERREIRA, A., FONSECA, B. e SOUZA, I. **Teste de toxicidade de cobre para *Artemia salina* – Poluição e ecotoxicologia marinha,** Nov. 2003.

BIANCHI; MANTOVANI, M.S.Y; MARIN –MORALES, M.A. **Analysis of the genotoxic potential flow concentration of malathion on the *Allium cepa* cell Sandra the patomatiss sueculture.** Journal of Environmental Science, Pequim, v.36, p.102-111, july, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução da diretoria colegiada RDC nº. 05, de 15 de Janeiro de 2007. Brasília: ANVISA. Available from: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/02\\_170107rdc.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/02_170107rdc.pdf). 2007.

CAMPOS-VENTURA, B. de C.; MARIN-MORALES, M. A. **Micronuclei and chromosome aberrations derived from action of Atrazine herbicides in *Allium cepa* meristematic cells.** SDRPJ, Journal of Earth Sciences Environmental Studies, v.1, n. 1, p. 22-28, jan, 2016.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES. M. A. **Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes.** Chemosphere, v. 72, n.5, p. 722-725, mar, 2008.

CARVALHO, C. A. de. *et al.* **Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers- Bignoniaceae): Estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*.** Revista Eletrônica de Farmácia, v. 6, n.1, p. 51-58, mar, 2009.

CUCHIARA, C. C.; BORGES, C. S.; BOBROWSKI, V.L. **Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador da citogenotoxicidade de cursos d'água.** Revista de Tecnologia & Ciência Agropecuária, João Pessoa, Paraíba, v.6, n.1, p.33-38, mar, 2012.

DOLABELLA, M. E. Triagem in vitro para a atividade antitumoral e anti-T. cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e sintéticos. 128f. **Dissertação de Mestrado.** Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1997.

ELDIN S.; DUNFORD, A. **Fitoterapia na atenção primária a saúde.** São Paulo: Manole; 2001.

FIGUEREDO, C. A. V.; GURGEL, I. G. D.; GURGEL JUNIOR, G. D. **A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios.** Physis Revista de Saúde Coletiva, v. 24, n. 2, p. 381-400, abr, 2014.

GONÇALVES L. A. A. Alergias a alimentos ou a derivados usados como excipientes em medicamentos. 64f. **Dissertação de mestrado** (Mestre em Ciências Farmacêuticas). Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2016.

GUERRA, M.; SOUZA. M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana.** 1 ed. Ribeirão Preto, São Paulo: FUNPEC, 2002.

GUIDINI, V. G. A. C. Avaliação bioquímica e genotóxica do tratamento de *Hibiscus sabdariffa* L. em ratos neonatos tratados com glutamato monossódico. 70f. **Dissertação de Mestrado.** Universidade Federal do Mato Grosso, Sinop, 2015.

HERRERA-ARELLANO, A. *et al.* **Clinical effects produced by a standardized herbal medicinal product of *Hibiscus sabdariffa* on patients with hypertension. A randomized, double-blind, lisinopril-controlled clinical trial.** Planta Medica, v.73, n. 1, p.6-12, jan. 2007.

HERRERO, O. *et al.* **Toxicological evaluation of three contaminant of emerging concern by use of *Allium cepa* test.** Mutation Reserch, Amsterdam, v. 743, n.1, p. 24-34, jan. 2012.

JABEUR, I. *et al.* ***Hibiscus sabdariffa* L. as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents.** Food Research International, v. 100, n.1, p. 717-723, octo. 2017.

JIMÉNEZ, G.; *et al.* **Biological screening of plants of the venezuelan amazons.** Journal of Ethnopharmacology, v. 77, n.1, p. 77-83, sep. 2001.

KONISHI, Y.; HAYASHI, S. M.; FUKUSHIMA, S. **Regulatory forum opinion piece\*: supporting the need for international harmonization of safety assessments for food flavoring substance.** Toxicologic Pathology, v. 42, n. 6, p. 949-953, july. 2014.

LACERDA, L. P.; MALAQUIAS, G.; PERON, A. P. **Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaeastigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the cell cycle of *Allium cepa* L.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3, p.1147-1150, july. 2014.

LEITE, J. J. G. *et al.* **Chemical composition toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea Americana* (avocado) seed extracts.** Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical v. 42, n. 2, p. 110-113,

july, 2009.

LIMA, M. V. S. *et al.* **Analysis of the cytotoxicity and genotoxicity of *Hibiscus sabdariffa* L. in natura and industrialized, and comparison of the toxicity between the analyzed forms of the plant.** *Multitemas*, v. 23, n. 55, p. 121-132, set./dez. 2018.

LIN, T. L. *et al.* ***Hibiscus sabdariffa* extract reduces serum cholesterol in men and women.** *Nutrition Research*, v. 27, p.140-145, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531707000280>>. Acesso em: 12 fev. 2018.

LIU, J.Y. *et al.* **The protective effects of *Hibiscus sabdariffa* extract on CCl<sub>4</sub>-induced liver brosis in rats.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 44, n.1, p. 336-343, mar. 2006.

LOPES, C.R. *et al.* **Folhas de chá.** Viçosa: UFV, 2005.

MALAQUIAS, G; *et al.* **Utilização na medicina popular, potencial terapêutico e toxicidade em nível celular das plantas *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia officinalis* L. e *Mentha piperita* L. (Família *Lamiaceae*).** *Revista. Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v. 7, n. 3, p. 50-68, octo. 2014.

MENDIETA, M. C. *et al.* **Plantas tóxicas: importância do conhecimento para realização da educação em saúde.** *Revista Enfermagem. UFPE online, Recife*, v. 8, n. 3, p. 680-6, mar. 2014.

MEYER, B. N. *et al.* **A convenient general bioassay for active plant constituents.** *Journal of Medical Plant Research*, v.45, n. 1, p.31-34, jan, 1982.

MONROY-ORTIZ, C.; CASTILLO-ESPANA, P. **Plantas medicinales utilizadas en el estado de morelos.** México: Uaem, 405p, 2007.

MOURA, A. G. *et al.* **Cytotoxicity of Cheese and Cheddar Cheese food flavorings on *Allium cepa* L root meristems.** *Brazilian Journal of Biology*, v. 76, n. 2, p. 439-443, jun. 2016.

MUKHTAR, M. A. **The effect of feeding rosella (*Hibiscus sabdariffa*) seed on broiler chicks performance.** *Research Journal Animal and Veterinary Science*, v. 2, n. 1, p.21-23, 2007.

NOLDIN, V.F. *et al.* **Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (ALCACHOFA) cultivada no Brasil.** *Quim. Nova*, v. 26, n. 3, p.331-334, 2003.

OLATUNDE, F. E.; FAKOYA, A. **Free radical scavenging and antigenotoxic activities of natural phenolic compounds in dried flowers of *Hibiscus sabdariffa* L.** *Molecular Nutrition and Food Research*, v. 49, n. 1, p. 1120-1128, dec. 2005.

OLIVEIRA. P. G, STORPIRTIS S. **Toxicidade de excipientes: carência de informação nas bulas de medicamentos disponíveis no mercado brasileiro.** *Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas*, v. 35, sp. 1, p. 71, 1999.

OLVERA-GARCIA, V. *et al.* ***Hibiscus sabdariffa* L. extracts inhibit the mutagenicity in microsuspension assay and the proliferarion of HeLa cells.** *Journal of Food Science*, v.73, n. 1, p.75-81, jun. 2008.

ORTEGA-RAMIREZ, L. A. *et al.* **Potential of medicinal plants as antimicrobial and antioxidants agents in Food industry: a hypothesis.** *Journal Food Sci.* v. 79 n. 2, p.29-37, feb. 2014.

PAREDES, P. F. M. **Screening of Bioactivities and Toxicity of *Cnidocolus quercifolius* Pohl.** *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 16, p. 1-10, apr. 2016.

PARRA, A. L.; YHEBRA, R. S.; SARDINÃS, I. G.; BUELA, L. I. **Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts.** *Phytomedicine*, v. 8, n. 5, p. 395-400, 2001.

PASSANHA, A. F. V.; ROLIM, L. A.; PEIXOTO, M. S. **Influência dos excipientes multifuncionais no desempenho dos fármacos em formas farmacêuticas.** Revista Brasileira de Farmacologia, v. 93, n. 2, p. 136-145, aprl. 2012.

PINHO, D. S.; STURBELLE, R. T.; MARTINO-ROTH, M. G.; GARCIAS, G. L. **Avaliação da atividade mutagênica da infusão de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em teste de *Allium cepa* e teste de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos.** Revista Brasileira de Farmacognosia. Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 20, n. 2, 165-170, 2010.

PRENESTI, E.; BERTO, S.; DANIELE, P. G.; TOSO, S. **Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers.** Food Chemistry, v. 100, n. 2, p. 433-438, dec. 2007.

RAMAKRISHNA, B. V. *et al.* **Antioxidant activities of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces and fruit extracts.** Journal of Food Science and Technology, v. 45, n. 1, p. 223-227, may. 2008.

RAMOS, D. D. *et al.* **Atividade antioxidante de *Hibiscus sabdariffa* L. em função do espaçamento entre plantas.** Revista Ciência Rural, v. 41, n. 8, aug. 2006.

SALES, I. M. S. *et al.* **Toxicity at the cellular level of artificial synthetic flavorings.** Acta Scientiarum. Biological Sciences, Maringá, v. 38, n.1, p. 297-303, dec. 2016.

SANTANA, G. M. *et al.* **Antimitotic and antimutagenic action of the *Hymenaea stigonocarpa* bark on dividing cells.** Brazilian Journal of Biology, São Carlos, v. 76, n. 1, p. 520 -525, june. 2016.

SANTOS, D. C.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. **Composição química, atividade citotóxica e antioxidante de um tipo de própolis da Bahia.** Química Nova. v. XY, n. 00, p. 1-5, sept. 2016.

SIQUEIRA, J. M. *et al.* **Estudo Fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach.** Rev. Química Nova, v. 21, n. 5, sept. 1998.

TONAZIO L. *et al.* **Reações adversas dos adjuvantes farmacêuticos presentes em medicamentos para uso pediátrico.** HU Revista, v. 37, n. 1, p. 63-68, mar. 2011.

VEIGA, L. F.; VITAL, N.; **Teste de toxicidade aguda com o micro crustáceo *Artemia* sp.** Artes Gráficas e Indústria, São Paulo, p.111-122. 2002.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. **Hibisco: do uso ornamental ao medicinal.** out. 2010. Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca> Acesso em: 12 fev. 2018.

VOLPATO, G. T. *et al.* **Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do *Diabetes mellitus*.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 4, n. 1, p. 35-45, jan. 2002.

## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE, CITOTÓXICIDADE E GENOTÓXICIDADE DE AROMATIZANTES PRESENTES EM MEDICAMENTOS PEDIÁTRICOS

Data de aceite: 05/06/2020

### **Maria Eduarda de Sousa e Silva**

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5359819852210219>

### **Fabelina Karollyne Silva Dos Santos**

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8037412831239199>

### **Mayra de Sousa Felix Lima**

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7759100076035161>

### **Thais Maria Sousa Andrade**

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7893278135913880>

### **Maria do Socorro Meireles de Deus**

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0231968397617981>

### **Ana Carolina Landim Pacheco**

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4031662027454518>

### **Ana Paula Peron**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-  
UTFPR, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3605560420792065>

### **Márcia Maria Mendes Marques**

Universidade Federal do Piauí-UFPI, Picos, Piauí,  
Brasil

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1673578415957204>

**RESUMO** Os aditivos excipientes, também denominados de ingredientes inativos, estão presentes em grande parte dos medicamentos, pois além de garantir a estabilidade e as propriedades biofarmacêuticas dos medicamentos melhoram as características organolépticas e, assim, a aceitação dos medicamentos, principalmente, pelo público infantil. O objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade de excipientes aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco presentes em medicamentos pediátricos. Foi utilizado como sistemas testes os bioensaios de *Allium cepa* e *Artemia salina*, por se tratarem de metodologias de fácil acesso e eficiência comprovada. Os três aromatizantes foram citotóxicos e genotóxicos as células de meristema de raízes de *A. cepa*. Resultados que corroboram os encontrados no ensaio com *A. salina*, no qual os aromatizantes causaram mortalidade de 100% dos náuplios de *A. salina* em todas as concentrações testadas, sendo considerados muito tóxicos. Os resultados aqui



apresentados deixam em alerta as indústrias farmacêuticas, no que tange a concentração utilizada desses aromatizantes nos medicamentos pediátricos. Pesquisas que visam avaliar a toxicidade de tais excipientes presentes em fármacos são necessárias para garantir a segurança de medicamentos infantis.

**PALAVRAS-CHAVE:** aditivos alimentares, crianças, medicamentos, *Allium cepa*, *Artemia salina*

## EVALUATION OF TOXICITY, CYTOTOXICITY AND GENOTOXICITY OF FLAVORING EXCIPIENTES USED IN PEDIATRIC MEDICINES

**ABSTRACT:** Excipient additives are also called inactive ingredients and they are present in most medications, and ensuring stability of drugs, improve their organoleptic properties and consequently the acceptance of the medications by children. The aim of this study was to evaluate the toxicity, cytotoxicity and genotoxicity of flavoring excipientes of Mentol, Laranja and Coco used in pediatric medicines. Two bioassays were performed: *Allium cepa* and *Artemia salina*. These results corroborate those found for the *A. salina* assay and all evaluated flavorings promoted 100% mortality of *A. salina* nauplii for all tested concentrations, demonstrating toxic. This results alert the pharmaceutical industry, regarding the concentration of these flavorings in pediatric medicines. Research aimed to evaluate of the toxicity of flavoring excipientes in drugs is necessary to ensure safety in the medicines for children

**KEYWORDS:** food additives, children, medicines, *Allium cepa*, *Artemia salina*

### 1 | INTRODUÇÃO

Os aditivos excipientes, também denominados de ingredientes inativos, estão presentes em grande parte dos medicamentos destinados a humanos e animais. Tais produtos não possuem ação medicamentosa, porém, são associados a fármacos com as funções principais de torná-los palatáveis e protegê-los contra a ação de microrganismos (BARROS *et al.*, 2015). Dentre os ingredientes mais utilizados em medicamentos estão os de ação aromatizante, corante e conservante (ARAÚJO; BORIN, 2012).

Descreveu-se por muitos anos esses excipientes como substâncias inertes que não apresentam ação farmacológica ou toxicológica, não afetando ou interferindo de nenhuma forma nos efeitos do medicamento e, dessa forma, praticamente nunca eram considerados quando o paciente apresentava reações adversas como alergias. (PIFFERI; RESTANI, 2003; NAPKE, 2004).

A avaliação dos excipientes utilizados nas formulações pediátricas é importante ao se considerar que os excipientes podem agir com o princípio ativo (DOMINGOS, 2010). Segundo Balbani *et al.* (2006), Pifferi *et al.* (2002), Napke *et al.* (1984) e Heineck *et al.* (2004) tais excipientes podem não ser componentes inertes na formulação pediátrica, e



sendo assim podem causar reações adversas ao interagir com o fármaco.

Os excipientes de medicamentos para uso interno podem ser: conservantes, corantes, aromatizantes (flavorizantes), adoçantes (edulcorantes) espessantes, emulsificantes estabilizantes ou antioxidantes. Eles mantêm os remédios livres de microrganismos e adequados ao consumo por mais tempo, além de torná-los palatáveis, favorecendo a adesão ao tratamento (BALBANI; STELZER; MONTOVANI, 2006). Existe em especial o grupo dos aromatizantes que possuem propriedades sensoriais que caracterizam cada sabor e aroma de produtos diversos (MELLO; THOMÉ; LIMA, 2004). Esses ingredientes são usados para melhorar o sabor dos medicamentos. Normalmente são segredos industriais, portanto não vêm especificados nas bulas. Os flavorizantes podem ser naturais (óleos essenciais extraídos de plantas e sabores naturais de frutas) ou artificiais (álcoois aromáticos, aldeídos, bálsamos, fenóis, terpenos, etc.) (KUMAR *et al.*, 1993).

De acordo com Polonio e Peres (2009), vários estudos mostram reações adversas aos excipientes, tanto na forma crônica como aguda. Por exemplo, as reações tóxicas no metabolismo causadoras de alergias, alteração no comportamento e até carcinogenicidade, que é observada em um tempo mais prolongado. Lucas (2001) mostra que tais aromatizantes podem desencadear efeitos indesejáveis por intolerância, mecanismo não imunológico que leva às reações anafilactóides e idiossincrasias, ou alergia que é um mecanismo imunológico que pode resultar em hipersensibilidade imediata ou tardia.

No desenvolvimento de medicamentos pediátricos, o número de excipientes e a sua quantidade numa formulação deve ser o mínimo possível, tendo em atenção a garantia da qualidade do produto, no que diz respeito à sua função, estabilidade, palatabilidade, controle microbiano, uniformidade de dose, entre outros fatores. Quanto a sua escolha, devem ser tomados em conta os seguintes aspetos: a função do excipiente na formulação e potenciais alternativos; a aceitação pelo doente, incluindo palatabilidade; a via de administração; o perfil de segurança do excipiente para as crianças na faixa etária alvo; a duração prevista do tratamento e a doença a ser tratada (EMA, 2013).

As indústrias farmacêuticas são obrigadas a discriminar os ingredientes inativos na bula dos medicamentos (BRASIL, 2003). Todavia muitos profissionais de saúde não leem a bula ou não têm noções sobre os excipientes ao prescrever medicamentos (KUMAR, 1993). Nos EUA, são efetuadas mais de 3,5 bilhões de prescrições pediátricas por ano. Destas, mais de 50% são de medicamentos que não foram sujeitos a ensaios clínicos na população mencionada; isto é, sem estudos acerca de qual a dosagem adequada, eficaz e segura (WERTHEIMER, 2011). Segundo o IMS Health, consultoria norte-americana especializada na área farmacêutica, em 2011, o mercado farmacêutico brasileiro atingiu cerca de R\$38 bilhões de reais em vendas e em foram comercializados mais de 2 milhões de unidades de medicamentos em 2010. Tais dados mostram o quanto vem crescendo o número de fármacos destinados às crianças, tornando cada vez mais importante a qualidade de produção desses fármacos.

O Ministério da Saúde, por meio da Anvisa (BRASIL, 2007), declara que, apesar de imprescindíveis para as indústrias farmacêuticas, os ingredientes excipientes levantam uma série de dúvidas quanto sua toxicidade em nível celular, uma vez que, estudos de avaliações de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidades sobre estes compostos são praticamente inexistentes na literatura científica. Também afirma que estas avaliações são essenciais para a elaboração e/ou modificações de documentos que regulamentam o uso de excipientes em medicamentos. Para Araújo (2012), o emprego desses compostos, quando possível, em formulações destinadas a grupos de risco deve limitar-se aos estritamente necessários para manter a qualidade do medicamento e a função do fármaco, de forma a evitar possíveis reações adversas.

Os testes de toxicidade são elaborados com os objetivos de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (FORBES; FORBES, 1994). O sistema teste *Allium cepa* L., através das células meristemáticas de suas raízes, é um importante bioensaio utilizado para a avaliação inicial de toxicidade de compostos químicos de interesse. As avaliações de citotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade, e da ação potencializadora de danos celulares, por meio deste sistema teste vegetal, são de longa data aceitas pela comunidade científica, em razão de que, os resultados obtidos por intermédio desse bioensaio demonstram, em grande parte das vezes, similaridades satisfatórias aos resultados obtidos em animais e em cultura de células (TABREZ *et al.*, 2011).

Segundo Hirota *et al.*, (2012), o ensaio de letalidade frente à *A. salina* é uma metodologia muito utilizada para avaliar o potencial tóxico de extratos e substâncias isoladas. Ela é utilizada em testes de toxicidade aguda devido à sua capacidade para formar cistos dormentes, sua praticidade de manuseio e cultivo, por ser um método rápido e barato, aplicável como bioindicador em uma avaliação toxicológica pré-clínica (CARVALHO, *et al.*; 2009). Devido á estas características, esta metodologia vêm sendo empregada além da linha de pesquisa em produtos naturais, sendo observada sua aplicabilidade em áreas como síntese de medicamentos, farmacologia, neurologia, química, meio ambiente, ecologia, screening biológico e outros (HIROTA *et al.*, 2012).

Até o momento, não existe na literatura científica estudos de toxicidade em nível celular de excipientes de aroma e sabor de Mentol, Laranja e Coco. Estes ingredientes são amplamente utilizados na fabricação de medicamentos, principalmente os de uso infantil. Ainda, são associados a fármacos destinados a animais de corte e cães (PAULINO; DETMAN; SILVA, 2014). Devido à escassez de pesquisa é impossível saber se modifica de forma prejudicial a composição dos fármacos, de tal forma que acarrete prejuízos à saúde de quem irá consumir.

Assim, o presente trabalho objetivou avaliar a citotóxicidade, genotóxicidade e toxicidade de excipientes de aroma e sabor de Mentol, Laranja e Coco. Foi analisado a ação desses excipientes de aroma, em diferentes soluções e tempos de exposição, sobre

a divisão celular usando como teste de *Allium cepa* e o microcrustáceo *Artemia salina*, por ser metodologias de fácil acesso e com resultados relevantes e satisfatórios.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção dos aromatizantes

Os excipientes aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco foram obtidos de uma indústria de fabricação de aditivos excipientes para medicamentos de grande representatividade no ramo, localizada na região sudeste do Brasil.

### 2.2. Sistema teste vegetal (*Allium cepa*)

As cebolas (*Allium cepa*) foram adquiridas de forma comercial, sendo escolhidas as de tamanho médio. Em seguida foram limpas e colocadas na água destilada por cerca de 72h em temperatura ambiente ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ ), para o crescimento das raízes até mais ou menos 2 cm e meio de comprimento, sendo a água trocada 2 vezes ao dia, garantindo assim o crescimento correto das raízes.

Cada excipiente aromatizante foi avaliado nos seguintes tratamentos: puro (sem diluição), e os aromatizantes diluídos em água destilada nas concentrações de 50%, 33,3%, 20% e 16,6%. Também foi realizado um controle apenas com água destilada.

#### 2.2.1. Avaliação da citogenotoxicidade dos aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco

Antes de colocar as raízes em contato com a suas respectivas soluções, algumas raízes foram coletadas e fixadas para servirem de controle do próprio bulbo, denominado de tempo de exposição 0h. Em seguida, as raízes restantes foram postas em suas respectivas soluções por 24 horas, procedimento este denominado de tempo de exposição 24 horas. Após este tempo, foram retiradas algumas raízes e fixadas. Feito este procedimento, as raízes restantes de cada bulbo foram devolvidas a seus respectivos tratamentos onde permaneceram por mais 24 horas, o que se denominou de tempo de exposição 48 horas. Em seguida, raízes novamente foram coletadas e fixadas

A fixação das raízes se deu em solução Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 24 horas. Em cada coleta, retirou-se, em média, três raízes por bulbo.

Em cada coleta, foi retirado, em média, quatro raízes por bulbo. No preparo das lâminas, utilizou-se 4 radículas por bulbo, as quais foram hidrolisadas em HCl 1N por 10 minutos. Foram, então, lavadas em água destilada. As raízes das cebolas foram coradas pela reação de Feulgen com orceína acética 2%. A região meristemática das radículas foi fragmentada com o auxílio de agulhas histológicas, coradas, e a lamínula colocada sobre

o material.

As lâminas, 05 por bulbo, foram feitas seguindo o protocolo proposto por Guerra e Souza (2002), e analisadas em microscópio óptico em objetiva de 40x. Para cada bulbo foi analisado 1.000 células, totalizando 5.000 células para cada controle de bulbo, para cada tempo de exposição 24 horas e para cada tempo de exposição 48 horas. Portanto, para cada tratamento analisou-se um total de 15.000 células.

### 2.2.2. Análise estatística

Para a determinação da citotoxicidade dos tratamentos realizados, foi apurado o número de células em interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. A partir desta análise determinou-se o índice mitótico (IM) através da seguinte equação: (número total de células em mitose ÷ número total de células analisadas) x 100. A genotoxicidade foi avaliada através da frequência de alterações de fuso mitótico

Para a análise estatística foi realizado o Teste de análise de variâncias (ANOVA) seguido por teste multiparamétrico de Tukey, utilizando o software Bioestat 2.0, considerando  $p < 0,05$ .

## 2.3 Sistema teste animal (*Artemia salina*)

### 2.3.1. Cultivo das larvas de *A. salina*

Os cistos de *A. salina* foram adquiridos na cidade de Teresina, estado do Piauí, em loja especializada em produtos para aquário.

Foi preparado uma solução salina contendo 25 g de sal marinho e 1000 mL de água potável. Após ser homogeneizada com um bastão de vidro, a solução foi colocada dentro de um aquário e aerada durante 30 minutos. Posteriormente, foram incubados 0,3 g de cistos de *A. salina*, mantendo a água em agitação e aeração constante, com auxílio de um compressor de aeração para aquário. A incubação foi feita durante o período de 48 horas. O aquário foi iluminado por uma lâmpada fluorescente 10 W (lâmpada de LED), sendo realizado o controle de temperatura para manter a variação máxima da solução entre 25 a 30 °C. O pH foi ajustado entre 8,0-9,0 adicionando-se gotas de uma solução 0,1 mol. L<sup>-1</sup> de NaOH. Após eclosão, os náuplios de *A. salina* foram alimentados com ração de tartaruga.

### 2.3.2. Tratamento

Após o período de incubação, 10 náuplios de *A. salina* foram transferidos, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, para tubos de ensaio contendo 3 mL das diferentes

diluições dos aromatizantes: 50%, 25%, 12,5%, 6,25%. O controle negativo foi preparado utilizando apenas solução salina, utilizado para se ter certeza de que a morte dos náuplios seria provocada pela toxicidade dos extratos, e não por falta de algum recurso durante a realização do teste. O teste foi feito em quadruplicata para cada concentração do aromatizante.

### 2.3.3. Contagem das Larvas

Após 24 horas em contato com o excipiente aromatizante, foi realizado a contagem do número de náuplios vivos e mortos, sendo considerados vivos todos aqueles que apresentassem qualquer tipo de movimento quando observados próximos a uma fonte luminosa. Só foram considerados válidos os testes nos quais o controle apresentou uma mortalidade igual ou inferior a 10% da população.

### 2.3.4. Análise dos dados

Os resultados de toxicidade frente a *A. salina* foram analisados determinando a porcentagem média de mortalidade em cada uma das concentrações.

A concentração que mata 50% das larvas ( $CL_{50}$ ) foi calculada com base na equação da reta obtida pela regressão linear, considerando a correlação do logaritmo das concentrações e o correspondente percentual de mortalidade. Ao valor de y (ordenadas) atribui-se a metade das mortes máximas possíveis ( $n/2$ ), ao resultado de x obtido (abscissas) aplica-se o antilogaritmo, resultando no valor final da  $CL_{50}$  (BARCELOS *et al.*, 2017; RAJEH *et al.*, 2012).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, é apresentado o número de células em interfase e em diferentes fases da divisão celular, e os valores de índice mitóticos obtidos a partir de células dos meristemas de raízes de *A. cepa* tratados com água e com os aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco. Na descrição dos resultados foram apresentados os valores significativo do Teste de análise de variâncias (ANOVA) seguido por teste multiparamétrico de Tukey.

AROMATIZANTE DE MENTOL

PROPORÇÃO	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
	CO	4148	528	77	67	180	852 <sub>a</sub>	17,0 <sup>a</sup>
PURO	24h	4296	453	43	35	173	704 <sub>b</sub>	14,1 <sup>b</sup>
	48h	4301	527	53	40	162	699 <sub>b</sub>	14,0 <sup>b</sup>
	CO	4251	503	40	40	166	749 <sub>a</sub>	15,0 <sup>a</sup>

50%	24h	4376	432	29	32	131	624 <sub>b</sub>	12,5 <sup>b</sup>
	48h	4517	348	25	27	83	483 <sub>c</sub>	9,7 <sub>c</sub>
33,3%	CO	4027	529	200	152	92	973 <sub>a</sub>	19,5 <sup>a</sup>
	24h	4659	178	97	34	32	341 <sub>b</sub>	6,8 <sub>b</sub>
20%	48h	4731	143	73	24	29	269 <sub>c</sub>	5,4 <sub>c</sub>
	CO	4155	532	54	65	194	845 <sub>a</sub>	16,9 <sup>a</sup>
	24h	4332	426	98	89	55	668 <sub>b</sub>	13,4 <sup>b</sup>
16,6%	48h	4394	398	44	34	130	606 <sub>b</sub>	12,1 <sup>b</sup>
	CO	4151	613	48	38	150	849 <sub>a</sub>	17,0 <sup>a</sup>
	24h	4287	502	47	36	128	713 <sub>b</sub>	14,3 <sup>b</sup>
	48h	4425	380	30	24	141	575 <sub>c</sub>	11,5 <sup>c</sup>

#### AROMATIZANTE DE LARANJA

PROPORÇÃO	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
PURO	CO	4092	543	234	111	20	908 <sub>a</sub>	18,16 <sup>a</sup>
	24h	4105	680	142	90	53	895 <sub>a</sub>	17,9 <sup>a</sup>
	48h	4216	602	44	32	106	784 <sub>b</sub>	15,68 <sup>b</sup>
50%	CO	4213	616	41	30	100	787 <sub>a</sub>	15,74 <sup>a</sup>
	24h	4309	530	27	25	109	691 <sub>a</sub>	13,82 <sup>a</sup>
	48h	4408	441	35	21	95	592 <sub>b</sub>	11,84 <sup>b</sup>
33,3%	CO	4237	546	54	41	122	763 <sub>a</sub>	15,26 <sup>a</sup>
	24h	4326	537	22	13	103	675 <sub>b</sub>	13,48 <sup>b</sup>
	48h	4337	482	38	31	112	663 <sub>b</sub>	13,26 <sup>b</sup>
20%	CO	4004	573	245	153	25	996 <sub>a</sub>	19,92 <sup>a</sup>
	24h	4175	650	40	28	107	825 <sub>b</sub>	16,5 <sup>b</sup>
	48h	4340	536	36	17	71	660 <sub>c</sub>	13,2 <sup>c</sup>
16,6%	CO	4284	674	7	3	32	716 <sub>a</sub>	14,32 <sup>a</sup>
	24h	4303	564	24	24	85	697 <sub>a</sub>	13,94 <sup>a</sup>
	48h	4495	420	24	16	45	505 <sub>b</sub>	10,1 <sup>b</sup>

#### AROMATIZANTE DE COCO

PROPORÇÃO	TE	TCII	P	M	A	T	TCD	IM (%)
PURO	CO	4045	720	34	24	177	955 <sub>a</sub>	19,1 <sup>a</sup>
	24h	4051	703	59	40	147	949 <sub>a</sub>	18,98 <sup>a</sup>
	48h	4188	651	24	24	113	812 <sub>b</sub>	16,24 <sup>b</sup>
50%	CO	3978	730	68	42	182	1022 <sup>a</sup>	20,44 <sup>a</sup>
	24h	4160	630	46	26	138	840 <sub>b</sub>	16,8 <sup>b</sup>
	48h	4208	636	24	20	112	792 <sub>b</sub>	15,84 <sup>b</sup>

33,3%	CO	4178	701	21	17	83	822 <sub>a</sub>	16,44 <sup>a</sup>
	24h	4172	665	29	20	114	828 <sub>a</sub>	16,55 <sup>a</sup>
	48h	4186	643	43	28	100	814 <sub>a</sub>	16,28 <sup>a</sup>
20%	CO	4218	578	47	23	134	782 <sub>a</sub>	15,64 <sup>a</sup>
	24h	4075	705	47	31	142	925 <sub>a</sub>	18,5 <sup>a</sup>
	48h	4083	719	39	31	128	917 <sub>a</sub>	18,34 <sup>a</sup>
16,6%	CO	4044	569	161	72		856 <sub>a</sub>	19,12 <sup>a</sup>
	24h	4082	594	110	78	145	918 <sub>a</sub>	18,38 <sup>a</sup>
	48h	4135	669	29	22	136 145	865 <sub>a</sub>	17,3 <sup>a</sup>

Tabela 1 - Número de células observadas para cada fase do ciclo celular em tecido meristemático de raízes de *Allium cepa* tratados com água e com os excipientes aromatizantes sintéticos de Mentol, Laranja e Coco, nas concentrações pura e de 50%, 33,3%, 20% e 16,6%, respectivamente, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.

TCII – Total de células em interfase e de células indiferenciadas; TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; IM – Índice Mitótico; TCD – Total de células em Divisão. P-M- A-T\_ fases da divisão celular. Dentro de um mesmo tratamento, valores de IM seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste ANOVA.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 01, verificou-se em relação ao aromatizante Mentol que o índice mitótico e o total de divisões referentes a dose pura no tempo de exposição 24 h, não foi significativo quando comparado com o índice de divisão celular observado para o seu respectivo controle. No entanto, o índice de divisão celular para o tempo de exposição 48 h desta mesma dose foi menor que os índices mitóticos observados para os seus respectivos controle e tempo de exposição 24 h. Em relação as concentrações 50%, 33,3% e 16,6% do mesmo aromatizante, notou-se que houve uma diferença significativa do tempo de exposição 24h como de 48h em relação ao controle, e também entre si. A concentração de 20% se comportou de forma similar a dose pura.

Em relação ao aromatizante de Laranja (Tabela 1) as concentrações pura, 50% e 16,6% apresentaram diferença significativa da divisão celular do tempo de exposição 48h em relação aos seus respectivos controles. Nas concentrações 33,3% e 20% os índices de divisão celular nos tempos de exposição 24 e 48 h foram significativamente menores que os obtidos para os seus específicos controles. Ainda para a concentração 20%, quando comparamos os índices mitóticos e os totais de divisão celular do tempo de exposição 48 h com os índices de divisão celular do tempo de exposição 24h constatou-se que também diferiu estatisticamente entre si.

Para o aromatizante de Coco (Tabela 1) observou-se que, a dose pura do produto não diferenciou estatisticamente em relação ao controle no tempo de exposição 24h, porém houve uma diferença significante do tempo de exposição 48h. Para a concentração 50%, houve uma diferença significativa dos tempos de exposição 24h e 48h comparando ao nível de divisão celular do controle, no entanto comparando entre si não há significância. Para as concentrações 33,3%, 20%, 16,6% não houve diferença significativa em relação



aos tempos de exposição 24h e 48h.

Os três excipientes aromatizantes na forma pura mostraram-se citotóxicos as raízes de *A. cepa*. O Mentol e Laranja mostraram-se citotóxicos em todas as concentrações testadas e o de Coco não foi citotóxico nas concentrações de 20% e 16,6%.

Na Tabela 2, são apresentados o número e os tipos de aberrações celulares encontrados em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* tratadas com água e com os aromatizantes alimentares sintéticos de Mentol, Laranja e Coco. Na descrição dos resultados foram apresentados os valores significativos do Teste de análise de variâncias (ANOVA) seguido por teste multiparamétrico de Tukey.

#### AROMATIZANTE DE MENTOL

Proporção	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfásica	Ponte telofásica	Micronúcleo	Célula binucleada	TAC
	CO	00	00	00	00	00	01 <sub>a</sub>
Puro	24h	04	03	30	00	00	37 <sub>b</sub>
	48h	15	20	33	32	06	106 <sub>c</sub>
	CO	00	00	01	00	00	01 <sub>a</sub>
50%	24h	03	10	10	06	03	32 <sub>b</sub>
	48h	15	37	36	11	01	100 <sub>c</sub>
	CO	00	01	00	00	00	01 <sub>a</sub>
33,3%	24h	00	07	03	09	02	21 <sub>b</sub>
	48h	08	11	15	20	03	57 <sub>b</sub>
20%	CO	00	00	00	00	00	00 <sub>a</sub>
	24h	04	05	10	06	00	25 <sub>b</sub>
	48h	14	22	30	20	10	96 <sub>c</sub>
16,6%	CO	00	00	01	00	00	01 <sub>a</sub>
	24h	05	06	03	06	01	21 <sub>b</sub>
	48h	11	17	10	09	03	50 <sub>c</sub>

#### AROMATIZANTE DE LARANJA

Proporção	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfásica	Ponte telofásica	Micronúcleo	Célula binucleada	TAC
	CO	01	00	00	00	00	01 <sub>a</sub>
Puro	24h	03	09	04	14	02	32 <sub>b</sub>
	48h	04	13	09	21	00	47 <sub>c</sub>
	CO	00	01	00	00	00	01 <sub>a</sub>
50%	24h	05	13	17	20	00	55 <sub>b</sub>
	48h	09	17	25	37	00	88 <sub>b</sub>
	CO	01	00	00	00	00	01 <sub>a</sub>
33,3%	24h	13	18	07	55	00	25 <sub>b</sub>

	48h	05	27	17	39	01	42 <sub>c</sub>
20%	CO	00	00	00	00	00	00 <sub>a</sub>
	24h	05	07	12	06	00	30 <sub>b</sub>
	48h	11	21	32	09	00	73 <sub>c</sub>
16,6%	CO	00	01	00	00	00	01 <sub>a</sub>
	24h	07	04	00	02	06	19 <sub>b</sub>
	48h	17	18	12	10	04	61 <sub>c</sub>

#### AROMATIZANTE DE COCO

Proporção	TE	Metáfase colchicínica	Ponte anáfásica	Ponte telofásica	Micronúcleo	Célula binucleada	TAC
	CO	00	00	00	00	00	00 <sub>a</sub>
Puro	24h	04	00	00	00	00	50 <sub>b</sub>
	48h	15	49	13	89	00	100 <sub>c</sub>
	CO	00	00	01	00	00	01 <sub>a</sub>
50%	24h	09	72	22	111	03	40 <sub>b</sub>
	48h	00	37	59	98	01	75 <sub>c</sub>
	CO	00	01	00	00	00	01 <sub>a</sub>
33,3%	24h	00	28	33	171	02	22 <sub>b</sub>
	48h	18	20	49	108	00	61 <sub>c</sub>
	CO	00	00	00	00	00	00 <sub>a</sub>
20%	24h	02	06	05	00	00	13 <sub>b</sub>
	48h	06	11	04	05	00	26 <sub>c</sub>
	CO	00	00	00	00	00	00 <sub>a</sub>
16,6%	24h	01	00	06	00	00	07 <sub>b</sub>
	48h	03	07	12	00	00	22 <sub>c</sub>
	CO	00	00	00	00	00	00 <sub>a</sub>

Tabela 2 – Número e tipos de aberrações celulares observadas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* tratadas com água e com os aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco, nas concentrações pura e de 50%, 33,3%, 20% e 16,6%, respectivamente, nos tempos de exposição de 24 e 48 horas.

TE – Tempo de Exposição; CO – Controle; TAC – Total de Alterações Celulares. Dentro de um mesmo tratamento, valores de TAC seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste ANOVA.

Os resultados apresentados na Tabela 2 mostram que em todas as concentrações dos excipientes aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco houve um aumento significativo do total de alterações cromossômicas nos tempos de exposição 24h e 48h em relação aos seus respectivos controles e entre si. Os aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco mostraram-se genotóxicos.

A inibição drástica da divisão em tecidos normais pode ocorrer pela ação de agentes que afetam a integridade do fuso nuclear durante a mitose promovendo significativo desarranjo cromossômico. Ao considerar que o princípio do ciclo celular é a formação de

células idênticas, a produção de novas células com alteração significativa na estrutura e/ou no número cromossômico tornam o funcionamento celular inviável e tendem a ser eliminadas de tecidos com desempenho normal, o que pode acarretar efeito antiproliferativo significativo (SALES *et al*, 2017).

Convém ressaltar que este foi o primeiro estudo a avaliar e demonstrar toxicidade em nível celular para as soluções aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco.

Na Tabela 3, são apresentados os resultados obtidos a partir da análise da toxicidade de excipientes aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco frente a náuplios de *A. salina*.

MENTOL		LARANJA		COCO	
	% MORTE		%MORTE		% MORTE
Controle	0	Controle	0	Controle	0
PURO	100	PURO	100	PURO	100
1:2	100	1:2	100	1:2	100
1:4	100	1:4	100	1:4	100
1:8	100	1:8	100	1:8	100
1:16	100	1:16	100	1:16	100

Tabela 3 - Porcentagem de mortalidade dos náuplios de *Artemia salina* frente os aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco, após 24 horas de exposição.

Pelos resultados obtidos na Tabela 3, pode-se perceber que em todas as concentrações houve a mortalidade de 100% dos náuplios de *A. salina*, ou seja, os aromatizantes de Mentol, Laranja e Coco são tóxicos, corroborando os resultados obtidos pelo sistema teste *A. cepa*.

Apesar de serem escassos os estudos sobre a toxicidade em nível celular de aromatizantes, são encontrados trabalhos que demonstraram citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade de alguns dos constituintes químicos com ações diluente e conservante que fazem parte, de acordo com Resolução RDC nº 2 de 15 de janeiro de 2007 (BRASIL, 2007), da formulação dos Excipientes em geral. Entre estes constituintes químicos está o álcool benzoico, compostos responsável por manter a uniformidade e facilitar a incorporação e dispersão dos aromas nos produtos alimentícios. Em análise a ação em nível celular deste diluente, Demir *et al.*,(2010) verificaram que este álcool promoveu danos significativos ao fuso mitótico, e, conseqüentemente, a divisão celular de células de sangue periférico humano.

Outro diluente encontrado na formulação dos aromatizantes é o diacetil (2,3-butadiona). Whittaker et al. (2008) citam que este composto em ensaio de mutação gênica em linfoma de ratos causou danos significativos ao loci do cromossomo 11 destas células, causando perda de expressão dos genes para enzima timidina-quinase. Ainda, More *et al.*, (2012) verificaram que o diluente diacetil teve o potencial de substituir bases de timina por

guaninas em regiões de eucromatina e ocasionar o rompimento de pontes de hidrogênio e de dissulfeto em estrutura terciária de enzimas envolvidas no processo de divisão celular. Na composição dos aromatizantes também são encontrados os compostos conservantes ácido bórico, ácido cítrico, citrato de potássio e citrato de sódio (Brasil, 1999) que, de acordo Tükoğlu (2007), acarretaram redução significativa ao índice de divisão celular de células de meristemas de raízes de *A. cepa*, mostrando-se citotóxicos.

É importante citar que na formulação dos aromatizantes, a única classe de compostos que possui restrição de uso normatizada pelos órgãos de segurança alimentar é a de solventes de extração, onde o ácido agárico, aloina, beta-azorona, berberina, cumarina, ácido cianídrico, hipericina, pulegona, quassina, safrol e isosafrol, santonina e tuyona alfa e beta possuem limites máximos toleráveis discriminados em documento (BRASIL, 1999; BRASIL, 2007). Na composição dos aromatizantes em geral, 11 são as classes de compostos químicos encontradas, onde cada uma é formada, em média, por 20 compostos químicos, e no qual a maioria não foi avaliada ainda quanto aos seus potenciais citotóxicos e genotóxicos, tornando pesquisas nessa área indispensáveis.

## 4 | CONCLUSÃO

Os aromatizantes Mentol e Laranja inibiram a divisão celular em todos os tratamentos constatando citotoxicidade e genotoxicidade frente a *Allium cepa*. Os resultados do bioensaio *Artemia salina* comprovaram que os três aromatizantes são tóxicos. Os resultados aqui apresentados deixam em alerta as indústrias farmacêuticas, no que tange a concentração utilizada desses aromatizantes em suas formulações. Pesquisas que visam avaliar a toxicidade de tais excipientes presentes em fármacos são necessárias, para garantir a segurança dos fármacos destinados ao público infantil

## REFERÊNCIAS

ANVISA. RESOLUÇÃO RDC nº 140 de 29 de maio de 2003. **Dispõe sobre a forma e conteúdo das bulas de medicamentos**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, D , 02 jun. Seção 1, 2003.

ARAUJO, A. C. F.; BORIN, M. F. **Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos**. Brasília Médica, v.49, n.4, p.267-78, 2012.

BALBANI, A. P. S.; STELZER, L. B.; MONTOVANI, J. C. **Excipientes de medicamentos e as informações da bula**. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia., v.72, n.3, 2006.

BARCELOS, I. B. et al. **Análise fitoquímica e das atividades citotóxica, antioxidante, e antibacteriana das flores de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson**. Revista Fitos, v. 11, n. 1, p. 1-118, 2017.

BARROS A.; OLIVEIRA, L.; DELMASCHIO, D. A.; ANTUNES, C. R., CHEQUER, F. M. D. **Corantes Alimentícios Amarantho, Eritrosina B e Tartrazina, e seus possíveis Efeitos Maléficos à Saúde Humana**. Journal of Applied Pharmaceutical Sciences – JAPHAC, v.2, n.3, 2015.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2007. **Resolução da diretoria colegiada RDC** n.5, de 15 de Janeiro de 2007. Acesso: 25 de janeiro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes/Aroma. Resolução N. 104 de 14 de maio de 1999.** Acesso: 15 de novembro de 2019.

CARVALHO, C. A. de. et al. **Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus miers-* Bignoniaceae): Estudo fitoquímico etoxicológico envolvendo *Artemia salina*.** Revista Eletrônica de Farmácia v.6, n.1, 2009.

DEMIR E, KOCAOGLU S, KAYA R. **Assessment genotoxic effects of benzyl derivatives by comet assay.** Food Chem Toxicol. v.48, n.5, 2010.

DOMINGOS, J. L. **Medicamentos em crianças.** In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Formulário terapêutico nacional 2010: Rename 2010.** Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2010.

EMA- European Medicines Agency. **Guideline on pharmaceutical development of medicines for paediatric use.** Londres. 2013.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. **Ecotoxicology in theory and practice.** Londres: Chapman and Hall, 1994, 247p.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar os cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana.** Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002.

HEINECK, I; CAMARGO, A. L; FERREIRA, M. B. C. **Reações adversas a medicamentos.** In: FUCHS, F.D; WANNMACHER, L; FERREIRA, M. B. C (Ed.). Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

HIROTA, B. C. K; PAULA, C. S; MIGUEL, O. G; MIGUEL, M. D. **Avaliação de toxicidade in vitro: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente à *Artemia salina*.** Visão Acadêmica, Curitiba. v.13, n.2, Abr. – Jun./2012.

INSTITUTE FOR SAFE MEDICATION PRACTICES. (2012). **Tips For Measuring Liquid Medicines Safely.** ConsumerMedSafety.org, 1–2.

KUMAR A; RAWLING R. D; BEAMAN D. C. **The mystery ingredients: sweeteners, flavorings, dyes, and preservatives in analgesic/antipyretic, antihistamine/decongestant, cough and cold, antidiarrheal, and liquid theophylline preparations.** Pediatrics. v.91, n.5, 1993.

LUCAS, C. D.; HALLAGAN, J. B.; TAYLOR, S. L. **The role of natural color additives in food allergy.** Advances in food and nutrition research, v. 43, n.1, 2001.

MELLO, C.; THOMÉ, F.; LIMA, M. **Aromatizantes.** Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2004.

MORE, S. S.; RAZA, A.; VINCE, R. **The butter flavorant, diacetyl, forms a covalent adduct with 2-deoxyguanosine, uncoils DNA, and leads to cell death.** J. Agric. Food Chem, v.60, n.12, 2012.

NAPKE, E. **A commitment to pharmacovigilance: 40 years on Ed Napke reflects on his life in pharmacovigilance.** Uppsala Rep, v.25, n.5, 2004.

NAPKE, E.; STEVENS, D. G. H. **Excipients and additives: hidden hazards in drug products and in product substitution.** Can. Med. Assoc. J., Ottawa v. 131, n. 12, 1984.

PAULINO, M. F.; DETMAN, E.; SILVA, A. G. **Bovinocultura otimizada**. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 9, Viçosa. Anais. Viçosa-MG: UFV, 2014.

PIFFERI G, RESTANI P. **The safety of pharmaceutical excipients**. Il Farmaco, v.58, n.8, 2003.

POLONIO, M. L. T.; PERES, F. **Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira**. Cadernos de Saúde Pública. v.25, n.8, 2009.

RAJEH, M. A. B.; KWAN, Y. P.; ZAKARIA, Z.; LATHA, L. Y.; JOTHY, S. L.; SASIDHARAN, S. **Acute toxicity impacts of Euphorbia hirta L extract on behavior, organs body weight index and histopathology of organs of the mice and Artemia salina**. Pharmacognosy Research , v.4, n.3, p.170 -177, 2012.

SALES, I. M. S.; BARBOSA, J. S.; SANTOS, F. K. S.; SILVA, F. C. C.; FERREIRA, P. M. P.; SOUSA, J. M. C.; PERON, A. P. **Acute toxicity of grape, plum and orange synthetic food flavourings evaluated in vivo test systems**. Food Technology and Biotechnology, v. 55, n. 1, 2017.

TABREZ, S.; SHAKIL, S.; UROOJ, M.; DAMANHORI, G.A.; ABUZENADAH, A.M.; AHMAD, M. **Genotoxicity testing and biomarker studies on surface water: an overview of the techniques and their efficacies**. Environmental Carcinogenesis Ecotoxicology Review, v. 29, n. 3, 2011.

TÜRKOĞLU, Ş. **Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of Allium cepa L**. Mut Res. v.627, n.1-2, 2007.

WERTHEIMER, A. **Off-label prescribing of drugs for children**. Current drug safety, v.6, n.1, 2011.

## IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA FÚNGICA EM AMOSTRAS DE ARROZ (*ORYZA SATIVA* L.) COMERCIALIZADAS EM MERCADOS PÚBLICOS DA CIDADE DE JOÃO PESSOA-PB

Data de aceite: 05/06/2020

Data de submissão: 13/03/2020

### **Gleice Rayanne da Silva**

Universidade Federal da Paraíba, Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos

João Pessoa-PB

<http://lattes.cnpq.br/4707792304054639>

### **Eurípedes Targino Linhares Neto**

Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas

João Pessoa-PB

<http://lattes.cnpq.br/8797592337465119>

### **Eloíza Helena Campana**

Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas

João Pessoa-PB

<http://lattes.cnpq.br/8543907865046777>

### **Aníbal de Freitas Santos Júnior**

Universidade do Estado da Bahia, Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas-

UNEB, Salvador-BA

<http://lattes.cnpq.br/4848541531516979>

### **Hélio Vitoriano Nobre Júnior**

Universidade Federal do Ceará, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, DACT-UFC,

Fortaleza-CE

<http://lattes.cnpq.br/3748078587451434>

### **Bruno Coelho Cavalcanti**

Universidade Federal do Ceará, Universidade

Federal do Ceará, Núcleo de Pesquisa em Medicamentos, NPDM-UFC, Fortaleza-CE

<http://lattes.cnpq.br/5431203157672972>

### **Hemerson Iury Ferreira Magalhães**

Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas – Programa de

Pós Graduação em Ciências da Nutrição, João Pessoa-PB

<http://lattes.cnpq.br/4966844003711861>

**RESUMO:** A alimentação é um fator essencial para a manutenção da vida, em decorrência disso, pode influir diretamente nos âmbitos social, econômico e científico. Um alimento básico na dieta de grande parte da população é o arroz, uma das principais fontes de carboidratos ingeridas pelo ser humano. Vários patógenos podem estar relacionados como contaminantes aos grãos e sementes de arroz, prejudicando a qualidade sanitária e nutricional dos mesmos, podendo levar ao desenvolvimento de distúrbios na saúde. Dentre esses patógenos destacam-se os fungos, microorganismos capazes de contaminar o arroz antes, durante e após a colheita, principalmente no período de armazenamento. Este cereal se apresenta como um ótimo substrato para o crescimento e proliferação dos fungos, que podem facilmente contaminá-lo com micotoxinas, por exemplo.



Estas são metabólitos secundários tóxicos, com comportamento carcinogênico, hepatotóxico, teratogênico e mutagênico, já descritos na literatura. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo identificar a presença de fungos em amostras de arroz comercializadas em mercados públicos na cidade de João Pessoa-PB. O estudo contou com a análise de 30 amostras unitárias, onde foi feito o cultivo microbiológico fúngico e, após o crescimento, realizou-se o isolamento e identificação desses microorganismos quando presentes. Os resultados demonstraram que 86,7% das amostras estavam contaminadas com algum tipo de fungo, entre os gêneros encontrados estão o *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Paecilomyces* e *Absidia*. Dentre as espécies de maior incidência destaca-se *Aspergillus flavus*, encontrada em 70% das amostras, o que desperta uma grande preocupação devido ao fato de que diversos estudos já relataram a produção de aflatoxinas, micotoxinas produzidas exclusivamente por esse gênero, e sua relação com o desenvolvimento de cânceres. Assim, foi possível inferir que o arroz comercializado está sujeito a contaminação por fungos, que podem produzir micotoxinas ou promover, por outros meios, danos para a saúde humana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Arroz. Fungos. Micotoxinas. Análises Toxicológicas.

## IDENTIFICATION OF THE FUNGAL MICROBIOTA IN RICE SAMPLES (*ORYZA SATIVA* L.) COMMERCIALIZED IN PUBLIC MARKETS IN THE CITY OF JOÃO PESSOA-PB

**ABSTRACT:** Food is an essential factor for the maintenance of life; as a result, it can directly influence the social, economic and scientific spheres. A staple food in the diet of a large part of the population is rice, one of the main sources of carbohydrates eaten by humans. Various pathogens can be related as contaminants to rice grains and seeds, impairing their sanitary and nutritional quality, which can lead to the development of health disorders. Among these pathogens, fungi stand out, microorganisms capable of contaminating rice before, during and after harvest, especially during the storage period. This cereal is a great substrate for the growth and proliferation of fungi, which can easily contaminate it with mycotoxins, for example. These are toxic secondary metabolites, with carcinogenic, hepatotoxic, teratogenic and mutagenic behavior, already described in the literature. Therefore, the present study aimed to identify the presence of fungi in rice samples sold in public markets in the city of João Pessoa-PB. The study included the analysis of 30 unit samples, where the fungal microbiological culture was carried out and, after growth, the isolation and identification of these microorganisms was performed when present. The results showed that 86.7% of the samples were contaminated with some type of fungus, among the genera found are *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Paecilomyces* and *Absidia*. Among the species with the highest incidence, *Aspergillus flavus* stands out, found in 70% of the samples, which arouses great concern due to the fact that several studies have already reported the production of aflatoxins, mycotoxins produced exclusively by this genus, and their relationship with the development of cancers. Finally, it was concluded that commercialized rice is subject to contamination by fungi, which

can produce mycotoxins or promote, by other means, damage to human health.

**KEYWORDS:** Rice. Yeast. Mycotoxins. Toxicology Analysis.

## 1 | INTRODUÇÃO

A alimentação é uma atividade fundamental e uma necessidade natural para manutenção da vida, além disso tem relação direta com aspectos sociais, políticos, científicos, econômicos e culturais imprescindíveis no desenvolvimento das populações (PROENÇA, 2010).

O arroz (*Oryza sativa* L.) é considerado um dos primeiros grãos a serem cultivados no mundo, ocupando cerca de 10% da terra cultivável do planeta. Junto com o milho e a soja, somados representaram 93,3% da estimativa da produção e responderam por 87,4% da área a ser colhida da agricultura brasileira, com uma produção interna de arroz correspondendo a 11,1 milhões de toneladas (IBGE, 2019). O consumo médio mundial é de 60 kg/pessoa/ano. Na América Latina são consumidos, em média, 30 kg/pessoa/ano, onde o Brasil se destaca como importante consumidor, com média de 45 kg/pessoa/ano (FAO, 2016). Devido a grande demanda, é necessário um controle nos processos de produção e armazenagem para garantir a sua qualidade, deixando-o livre de qualquer contaminante que possa prejudicar direta ou indiretamente a saúde do consumidor (KATSURAYAMA et al., 2017).

Dentre esses contaminantes, destaca-se a presença de vários tipos de patógenos que podem desfavorecer a qualidade sanitária e nutricional do arroz (GUIMARÃES et al., 2010). O elevado contato com a água durante o plantio cria condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos, em especial os fungos. O desenvolvimento fúngico se dá sob condições ambientais favoráveis e está relacionado à temperatura, tempo, teor de umidade e condições físicas do grão, pH, taxa de oxigenação, nível de inóculo, entre outros (TANAKA et al. 2007; ZHU et al. 2013; PRIETTO, 2014).

O armazenamento de cereais por longos períodos é uma prática comum utilizada mundialmente. Boa parte da safra do arroz anual é perdida devido à ineficiência de condicionamento pós-colheita, onde a ausência de “Boas Práticas Agrícolas” favorecem as contaminações por microrganismos. A temperatura e a umidade são fatores determinantes para a reprodução e o crescimento de insetos e fungos, sendo estes os principais contaminantes dos grãos armazenados. A atividade dos fungos pode causar efeitos indesejáveis nos grãos, como a descoloração, a alteração na digestibilidade, odores desagradáveis, e como consequência, a inutilização do produto para alimentação (MAGAN; ALDRED, 2007; ELIAS, 2007; HOELTZ et al. 2009; PRIETTO, 2014).

Alguns tipos de fungos produzem metabólitos secundários altamente tóxicos, que caso ingerido, pode causar sérios transtornos ao organismo humano, como por

exemplo, as micotoxinas (VINHA et al., 2011; DORS; BIERHALS; BADIALE-FURLONG, 2011; SABINO, 2014; KATSURAYAMA et al., 2017). Espécies pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, têm sido relatadas na literatura como produtores dessas substâncias. Uma mesma espécie de fungo pode produzir simultaneamente diversos tipos de micotoxinas. Atualmente se conhecem cerca de 450 grupos, sendo as aflatoxinas as de maior interesse na pesquisa, devido a sua ampla incidência e alta toxicidade (FERREIRA; FREITAS; MOREIRA, 2014; IQBAL et al., 2015; MASOOD et al., 2015).

As aflatoxinas são produzidas por um processo de metabolismo de espécies do gênero *Aspergillus*, especialmente *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius*. Incluem-se também outras espécies menos comuns, como: *Aspergillus pseudotamarii*, *Aspergillus bombycis*, *Aspergillus parvisclerotigenus*, *Aspergillus toxicarius* e *Aspergillus ochraceoroseus* (KLICH, 2007; CARVALHO et al., 2010).

Mesmo sendo mais incomum a presença de aflatoxinas no arroz, quando comparado a outros cereais, como o trigo e o milho, há um risco de dano crônico devido à ingestão contínua deste cereal e seus derivados (MAZIERO; BERSOT, 2010; PRIETTO, 2014). A falta de sinais visuais de contaminação no alimento não significa que o mesmo esteja livre de toxinas, pois elas tendem a permanecer nos produtos mesmo após o desaparecimento dos fungos que são responsáveis por sua produção (OLIVEIRA; KOLLER, 2011).

Levando em consideração que esses metabólitos fúngicos possuem elevada toxicidade e que os produtos alimentícios, como cereais, são um substrato ideal para o desenvolvimento de fungos, além de que, a ingestão de alimentos contaminados podem apresentar riscos para o ser humano e animais, é necessário o profundo estudo para o desenvolvimento de técnicas que possam vir ser aplicadas na identificação e no controle desses microrganismos (SAKATA; SABBAG; MAIA, 2011; MORA; CASTILHO; FRAGA, 2016).

Diante desse pressuposto, o presente trabalho teve por objetivo identificar a microbiota fúngica em amostras de arroz comercializadas em mercados públicos da cidade de João Pessoa-PB.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, realizou-se a coleta das amostras de arroz em mercados públicos da cidade de João Pessoa-PB, onde 30 unidades individuais e isoladas foram coletadas. Essas amostras eram armazenadas em sacos plásticos estéreis, vedadas e identificadas quanto ao local e horário de coleta, peso e aparência, além de conter outras informações a respeito de armazenagem e local de origem.

Essas amostras eram advindas das cidades de Curitiba-PR, Caicó-RN, Patos-PB,

Sousa-PB e Catolé do Rocha-PB. O tempo de estocagem no local era variável, mas em média a venda de todo volume durava cerca de três meses. Após a coleta, as alíquotas foram levadas para o Laboratório de Toxicologia da UFPB (LabTox), onde foram realizados os experimentos no período de até 24 horas.

Os materiais necessários para a realização dos experimentos foram erlenmeyers, bastões, proveta, pipetas, béqueres, balões volumétricos, funis, placas de Petri, tubos com tampas rosqueáveis e alça de cultivo. Todos os materiais a serem utilizados em cada experimento eram previamente esterilizados em autoclave por 30 minutos.

O meio utilizado para o cultivo foi o Ágar Batata Dextrose 0,039 g/mL, comumente utilizado para cultura, identificação, isolamento e contagem de fungos e leveduras. Para cada cultivo foram utilizados cerca de 20 mL desse material por placa, sendo 30 amostras, cada uma cultivada em três diferentes concentrações, e cada concentração cultivada em duplicata, somando um total de 180 placas. Para o preparo, pesou-se em um béquer a quantidade de ágar necessário, transferiu-se para o erlenmeyer e foi adicionado o volume de diluente (água destilada) previamente medido, sob constante homogeneização, utilizando bastão de vidro. Em seguida, adicionou-se ácido tartárico para acidificar e o antibiótico cloranfenicol para evitar que se desenvolvessem bactérias nas placas. O conteúdo foi levado para a autoclave onde foi esterilizado e em seguida distribuído nas placas de Petri.

Para se obter as soluções das amostras para o cultivo, foi utilizada água peptonada, diluente de escolha por possuir nutrientes que ajudam os microorganismos a se desenvolverem. Para cada amostra bruta (arroz em grãos), utilizou-se 250 mL para a diluição total (solução-mãe) e 15 mL para diluição unitária (diluição em diferentes concentrações). Para a preparação das soluções-mãe, adicionou-se 25 gramas de cada amostra de arroz em erlenmeyers, com 250 mL de água peptonada, agitando-se vigorosamente com bastão de vidro, em seguida foi deixado em repouso por algumas horas. Posteriormente, foi feita a preparação das diluições utilizando tubos com tampas rosqueáveis, nas concentrações de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , com volume total de 15 mL.

Após a desinfecção da bancada com álcool, e sob uma chama, verteu-se 1 mL da solução de cada amostra em placas de Petri individuais, devidamente identificadas. Em seguida, realizou-se movimentos circulares afim de que a solução se distribua uniformemente, finalizando com o acondicionamento das mesmas à temperatura ambiente em local reservado.

O acompanhamento foi feito durante cinco dias para observar se ocorreu o desenvolvimento. No quinto dia, fez-se a leitura pela contagem das colônias, observação e identificação dos fungos macroscopicamente por sua morfologia.

Posteriormente, os fungos que apresentaram crescimento foram isolados, devido à presença de várias colônias em uma placa, mesmo visivelmente separadas, algumas estruturas de brotamento podem estar unidas dificultando a identificação correta na

microscopia. Essa técnica baseia-se na inoculação de uma pequena parte das colônias em tubos unitários contendo meio de cultura. Após 20 dias, foram realizadas as leituras das amostras isoladas, identificando os fungos presentes, e quando necessário, foi feito o microcultivo para a observação das pseudo-hifas e esporos produzidos pelas leveduras. Nesse procedimento, foi colocado sobre uma lâmina estéril, contida em uma placa de Petri, um cubo de Ágar Batata, onde a amostra do fungo foi semeado, a partir de repique recente, cobrindo-se com uma lamínula e em meio à câmara úmida, à temperatura ambiente, por sete dias. Após esse período, observou-se em microscópio óptico o tipo e cor da hifa, forma, disposição e formação de esporos.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fungos são microrganismos eucariontes encontrados na natureza em diversos habitats, como solo, água e ar. Quando suas estruturas reprodutivas, esporos ou conídios, caem sob um substrato adequado, essas são capazes de se desenvolverem e darem origem a novas estruturas vegetativas. Para isso, é necessário que o substrato forneça substâncias indispensáveis para a alimentação dos fungos, como é o caso da clorofila. A incapacidade de produzir algumas substâncias faz com que esses microrganismos vivam em estado de saprofitismo, parasitismo, simbiose ou mutualismo (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRA, 2014).

Muitas espécies fúngicas fazem parte da microbiota normal de animais e do homem, porém alguns tipos de fungos são capazes de causar processos infecciosos, como também quadros de hipersensibilidade, micetismos e micotoxicoses (MEZZARI et al., 2017; COSTA; MUNIZ, 2019).

Além de contaminarem seres vivos, os fungos são comumente encontrados em alimentos, especialmente grãos, onde encontram o ambiente ideal para se desenvolverem (MOLINARO; CAPUTO; AMENDOEIRO, 2014). O arroz, por exemplo, possui nutrientes como carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas e minerais, estes que constituem um substrato adequado para seu crescimento (WEBER, 2012; BEBER-RODRIGUES; SCUSSEL, 2013).

Devido a isso, esse grão é facilmente infestado por fungos patogênicos nos períodos anterior e posterior a colheita, e principalmente durante a estocagem (SILVA et al., 2008; EMBRAPA, 2018). Diversos fatores que contribuem para o desenvolvimento dos fungos no arroz são umidade, temperatura, período de armazenamento, impurezas, condições físicas e sanitárias do grão, entre outros (PRIETTO, 2014; MORA; CASTILHO; FRAGA, 2016).

Com base nessas informações, resolveu-se avaliar o nível de contaminação de 30 amostras de arroz coletadas em mercados públicos da cidade de João Pessoa-PB. Os resultados demonstraram que foi possível observar o crescimento de fungos em vinte e

seis amostras, caracterizando uma taxa de contaminação de 86,7%. Na contagem do número de colônias, foi visto um decréscimo deste valor à medida que se aumentou a diluição (Quadro 1).

Amostra	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup> dup	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-2</sup> dup	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup> dup
1	39	37	24	19	10	8
2	46	53	23	36	13	10
3	56	53	25	31	17	21
4	73	64	33	39	25	16
5	55	43	30	37	14	22
6	38	41	22	29	5	16
7	65	56	30	24	11	8
8	54	59	42	46	30	24
9	69	60	54	50	34	30
10	48	39	25	20	9	12
11	72	66	44	48	18	20
12	AUSENTE					
13	65	61	47	40	16	11
14	67	74	36	45	19	20
15	55	59	41	48	22	15
16	48	40	27	36	25	16
17	AUSENTE					
18	65	76	51	48	21	16
19	54	58	34	39	18	13
20	78	70	45	40	9	12
21	66	61	44	43	10	19
22	67	78	51	55	14	12
23	52	49	30	39	26	24
24	57	59	32	44	23	20
25	AUSENTE					
26	69	74	47	50	7	13
27	AUSENTE					
28	77	91	63	64	32	26
29	69	86	56	51	27	23
30	58	62	30	22	9	11

Quadro 1 – Amostras contaminadas e número de colônias por placa.

Legenda; Dup = duplicata.

Observou-se alto índice de contaminação, fato esse preocupante, visto que torna-se necessário maior fiscalização para alimentos vendidos a granel e/ou *in natura*, buscando-se maior controle de contaminantes nesse tipo de alimento.

Alguns fungos, como os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, têm sido descritos na literatura por produzirem micotoxinas, que se caracterizam como um grupo de metabólitos secundários tóxicos de baixo peso molecular que causam prejuízos à saúde humana quando ingeridos (SACRAMENTO, 2016; BRAGA et al., 2017). Estima-

se que, no mínimo, 25% dos cereais produzidos mundialmente estejam contaminados com micotoxinas, incluindo o arroz (PRIETTO, 2014; KOESUKWIWAT; SANGUANKAEW; LEEPIPATPIBOON, 2016).

Diante disso, foi investigado quais tipos de fungos estariam presentes nessas amostras. Após a identificação, constatou-se a presença não apenas dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, como também *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Paecilomyces* e *Absidia* (Quadro 2). Sendo, a espécie *Aspergillus flavus* a mais prevalente, estando presente em 21 amostras.

Fungos	Número da(s) amostra(s)	Total
<i>Aspergillus flavus</i>	1 2 4 5 6 7 8 9 10 11 14 15 18 19 20 22 24 26 28 29 30	21
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3 11 24	3
<i>Aspergillus nidulans</i>	4 16 26	3
<i>Aspergillus niger</i>	3 7 14 21	4
<i>Aspergillus ochraceus</i>	13 15 21	3
<i>Aspergillus parasiticus</i>	2 10 23 26	4
<i>Penicillium spp.</i>	1 3 8 14 18 21 22 23 29 30	10
<i>Rhizopus oryzae</i>	6 9 13 30	4
<i>Cladosporium spp.</i>	16 22	2
<i>Paecilomyces variotti</i>	11	1
<i>Absidia corymbifera</i>	13	1

Quadro 2 – Gêneros e espécies presentes nas amostras.

Em alguns gêneros não foi possível a identificação da espécie.

A elevada frequência de *Aspergillus flavus* foi verificada em um estudo realizado por HOELTZ et al. (2009), na cidade de Cachoeirinha no Rio Grande do Sul, tendo essa espécie uma incidência de 51,3% nas amostras iniciais, fortalecendo os resultados contemplados neste trabalho.

Essa espécie tem se destacado por dar origem a metabólitos secundários denominados aflatoxinas, que são toxinas intimamente relacionadas a atividades cancerígenas nos homens e nos animais. A contaminação por aflatoxinas geralmente ocorre em clima quente e úmido, compatível com o da cidade de João Pessoa (CARRENO; HURTADO; NAVAS, 2014; HUSSAIN et al., 2015).

## 4 | CONCLUSÕES

O cultivo mostrou que 86,7% das amostras apresentaram contaminação por algum tipo de fungo;

Em todos os casos, os fungos de maior incidência pertenciam ao gênero *Aspergillus* spp.;



A espécie *Aspergillus flavus* foi a mais encontrada entre as amostras analisadas; Os resultados sugerem a necessidade de se adotar medidas de monitoramento da qualidade sanitária desse alimento e dos grãos em geral durante toda cadeia produtiva, sugerindo a necessidade de um possível estabelecimento de uma legislação para controle específico

## REFERÊNCIAS

- BEBER-RODRIGUES, M.; SCUSSEL, V. M. Mycoflora and mycotoxicological quality of four freshly harvested paddy rice cultivars and relation with harvest to industry reception timing. **Rice Science**, Hangzhou, v. 20, n. 4, p. 303-308, 2013.
- BRAGA, C. M. S. R.; HOLANDA, E. G. M.; BARBOSA, M. B. C.; GOMES, E. B. S. Detecção presuntiva de aflatoxinas em amendoins comercializados na cidade do Recife, PE, Brasil. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n. 2, p. 141-146, 2017.
- CARRENO, V. A.; HURTADO, G. J. J.; NAVAS, M. C. Exposición a aflatoxina: Un problema de salud pública. **Latreia**, v. 27, n. 1, p. 42-52, 2014.
- CARVALHO, R. A.; BATISTA, L. R.; PRADO, G.; OLIVEIRA, B. R.; SILVA, D. M. Incidência de fungos toxigênicos e aflatoxinas em arroz. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 946-952, 2010.
- COSTA, M. A. A.; MUNIZ, E. M. S. Assistência de enfermagem a pacientes identificados com hipersensibilidade aos aeroalérgenos em um ambulatório de alergia e imunologia - relato de experiência. IV Jornada Acadêmica do Hospital Universitário Alberto Antunes. **GPNEWS**, v. 2, n. 2, p. 632-638, 2019.
- DORS, G. C.; BIERHALS, V. S.; BADIALE-FURLONG, E. Parboiled rice: chemical composition and the occurrence of mycotoxins. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 172, 2011.
- ELIAS, M. C. Pós-colheita de arroz: secagem, armazenamento e qualidade. 1ª ed. Pelotas: **Editora e Gráfica Universitária UFPEL**, v.1, p. 424, 2007.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Qualidade sanitária de grãos de arroz colhidos e armazenados. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 305**, dezembro de 2018. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1102595/1/BOLETIM305.pdf>> Acesso em: 10 de março de 2020.
- FERREIRA, M. C.; FREITAS, D. F.; MOREIRA, E. A. Identificação de aflatoxinas em paçocas de amendoim comercializadas na cidade de Lavras-MG. **Revista de Ciência Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, p. 717-722, 2014.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – (FAO, 2016). **Food outlook: biannual report on global food markets**. Roma. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-I5703E.pdf>> Acesso em: 20 out. 2017.
- GUIMARÃES, I. C. O.; SOUZA, A. R. M.; CORNÉLIO, V. M. O.; PEREIRA, J.; VILLELA, V. A. Identificação de *Aspergillus* spp. toxigênico em arroz. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 60-62, 2010.
- HOELTZ, M.; FAGUNDES, C. A.; ALCAYAGA, E.A.L.; NOLL, I. B. Micobiota e micotoxinas em amostras de arroz coletadas durante o sistema estacionário de secagem e armazenamento. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, 2009.
- HUSSAIN, A.; AFZAL, A.; IRFAN, M.; MALIK, K. A. Molecular detection of aflatoxin producing strains of

*Aspergillus flavus* from peanut (*Arachis Hypogaea*). **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, v. 3, n. 5, p. 335-341, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, 2019.

IQBAL, S. Z.; JINAP, S.; PIROUZ, A. A.; AHMAD-FAIZAL, A. R. Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 1, p. 110-119, 2015.

KATSURAYAMA, A. M.; TANIWAKI, M. H. Fungos e aflatoxinas no arroz: ocorrência e significado na saúde do consumidor. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.

KLICH, M. A. Environmental and developmental factors influencing aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. **Mycoscience**, Tokyo, v.48, p.1-80, 2007.

KOESUKWIWAT, U.; SANGUANKAEW, K.; LEEPIPATPIBOON, N. Evaluation of a modified QuEChERS method for analysis of mycotoxins in rice. **Food Chemistry**, v. 153, p. 44-51, 2016.

MAGAN, N.; ALDRED, D. Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, p. 131–139, 2007.

MASOOD, M.; ASI, M. R.; IQBAL, S. Z.; MALIK, N. Natural occurrence of aflatoxins in dry fruits and edible nuts. **Food Control**, v. 55, n. 1, 2015.

MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. v. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.

MEZZARI, A.; HERNANDES, K. M.; FOGAÇA, R. F. H.; CALIL, L. N. Prevalência de micoses superficiais e cutâneas em pacientes atendidos numa atividade de extensão universitária. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 21, n. 2, p. 151-156, 2017.

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**, v. 4. Escola Politécnica em Saúde Joaquim Venâncio, 2014

MORA; M. A. E.; CASTILHO, A. M. C.; FRAGA, M. E. Fungos entomopatogenicos: enzimas, toxinas e fatores que afetam a diversidade. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 18, n. 3, p. 335-349, 2016.

OLIVEIRA, L. S. F.; KOLLER, F. F. C. Ocorrência de *Aspergillus* spp.e Aflatoxinas em amostras de amendoim in natura e paçocas. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v. 5, n. 1, p. 57-68, 2011.

PRIETTO, L. Operações de pós-colheita do arroz e seus impactos nos níveis de aflatoxinas  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$  e  $G_2$ . **Dissertação de Mestrado** em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2014.

PROENÇA, R. P. C. Alimentação e globalização: algumas reflexões. **Ciência e Cultura**, v. 62, n. 4, p. 43-47, 2010.

SABINO, M. Micotoxinas em alimentos. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M.; BATISTUZZO, J. A. **Fundamentos de Toxicologia**, 4ª ed. Atheneu, São Paulo, 2014.

SACRAMENTO, T. R. Importância da Contaminação de Alimentos por Aatoxinas para a Incidência de Câncer Hepático. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 18, n. 1, p. 141-169, 2016.

SAKATA, R. A. P.; SABBAG, S. P.; MAIA, J. T. L. S. Ocorrência de aflatoxinas em produtos alimentícios e

o desenvolvimento de enfermidades. **Enciclopédia Biosfera - Centro Científico Conhecer**, v. 7, n. 13, p. 1498, 2011.

SILVA, J. O.; CANDIDO, L. M. B.; NOVELLO, D.; MACHADO C. Ocorrência de aflatoxinas em arroz consumido por militares do Exército Brasileiro por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciências e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1238-1244, 2008.

TANAKA, K.; SAGO, Y.; ZHENG, Y.; NAKAGAWA, H.; TANAKA, M. K. K.; SAGO, Y.; ZHENG, Y.; NAKAGAWA, H.; KUSHIRO, M. Mycotoxins in rice. **International Journal of Food Microbiology**, n. 119, p. 59–66, 2007.

VINHA, M. B.; PINTO, C. L. O.; PINTO, C. M. F.; SOUZA, C. F.; SOUZA, M. R. M.; OLIVEIRA, L. L. Impactos do uso indiscriminado de agrotóxicos em frutas e hortaliças. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 1, p. 102-107, 2011.

WEBER, J. M. Arroz: características químicas, culinárias e nutricionais das diferentes variedades consumidas no Brasil. **Trabalho de Conclusão de Curso** apresentado a Universidade de Brasília, 2012.

ZHU, Z.; LIU, G.; CHEN, Y.; CHENG, J. Assessment of aflatoxins in pigmented rice using a validated immunoaffinity column method with fluorescence HPLC **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 31, p. 252–258, 2013.

## CONTROLE DE QUALIDADE DAS CASCAS DE AROEIRA COMERCIALIZADAS NO MERCADO CENTRAL DE SÃO LUÍS-MARANHÃO

Data de aceite: 05/06/2020

### **Anáyra Almeida Machado Santos**

Graduada em Farmácia pela Universidade  
CEUMA

São Luís, Maranhão.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0795023840640992>

### **Nágila Caroline Fialho Sousa**

Graduada em Farmácia pela Universidade  
CEUMA

São Luís, Maranhão.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7670885799036582>

### **Fernanda Karolinne Melo Fernandes**

Acadêmica em Farmácia pela Universidade  
CEUMA

São Luís, Maranhão.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3654300100216322>

### **Fernanda de Oliveira Holanda**

Acadêmica em Farmácia pela Universidade  
CEUMA

São Luís, Maranhão.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5041564071501467>

### **Sabrina Louhanne Corrêa Melo**

Acadêmica em Farmácia pela Universidade  
CEUMA

São Luís, Maranhão.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5340255898858039>

### **Caio de Souza Carvalho**

Acadêmico em Farmácia pela Universidade  
CEUMA

São Luís, Maranhão.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4400626645028922>

### **Denize Rodrigues de Carvalho**

Acadêmica em Farmácia pela Universidade  
CEUMA

São Luís, Maranhão.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3896943743415154>

### **Vivian Beatriz Penha da Cunha**

Graduada em Farmácia, Universidade Ceuma

São Luís, Maranhão. São Luís, Maranhão.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9592750860172780>

### **Laoane Freitas Gonzaga**

Graduada em Farmácia pela Universidade  
CEUMA

São Luís, Maranhão.

### **Mizael Calácio Araújo**

Graduado em farmácia pela Universidade Ceuma

Doutorando em Biotecnologia – UFMA

São Luís, Maranhão.

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6695967741075497>

### **João Francisco Silva Rodrigues**

Graduado em farmácia pela Universidade Ceuma

Doutorando em Biotecnologia – UFMA

São Luís, Maranhão.

**RESUMO:** No momento em que algum fitoterápico é escolhido como forma de terapia, são necessários estudos para certificar-se que eles possuem o efeito desejado. Dentre as plantas de grande consumo popular encontra-se a espécie vegetal *Schinus terebinthifolius*, que possui distribuição tropical e subtropical, é originária da América do Sul, nativa do Brasil, Paraguai, Uruguai e leste da Argentina. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade da droga vegetal de *Schinus terebinthifolius* (aroeira) comercializadas em um mercado público da grande São Luís –MA. Para isso, foram realizados testes físico-químicos e fitoquímicos utilizando metodologias farmacopeicas e não farmacopeicas. Todas as amostras obtidas das diferentes barracas apresentaram o mesmo padrão macroscópico, segundo a farmacopeia, com exceção as barracas N°2 e N°4, onde a coloração apresentou-se marrom. Quanto a determinação do teor de umidade, as dezesseis amostras das quatro barracas ficaram reprovadas, pois apresentaram percentuais muito abaixo do limite estabelecido em literatura. Nos testes de materiais estranhos e cinzas totais, todas as amostras foram aprovadas segundo as especificações da farmacopeia Brasileira. Na triagem fitoquímica, houveram diferenças dos metabólitos secundários entre amostras obtidas de diferentes barracas. Estes resultados revelam a comprovação da exposição do consumidor ao risco real de consumo de material vegetal impróprio, associado às precárias condições higiênico-sanitárias dos mercados públicos e feiras livres.

**PALAVRA-CHAVE:** Fitoterapia. Metabólitos secundários. Mercados Públicos.

#### QUALITY CONTROL OF SAMPLES OF SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS (AROEIRA) MARKETED IN THE CENTRAL MARKET OF SÃO LUÍS-MARANHÃO

**ABSTRACT:** When a herbal medicine is chosen as a therapy, studies are needed to make sure they have the desired effect. Among the plants of great popular consumption is the plant species *Schinus terebinthifolius*, which has tropical and subtropical distribution, originating from South America, native to Brazil, Paraguay, Uruguay and eastern Argentina. This study aimed to evaluate the quality of the vegetable drug of *Schinus terebinthifolius* (aroeira) sold in a public market in Greater São Luís –MA. For this, physicochemical and phytochemical tests were performed using pharmacopoeic and non pharmacopoeic methodologies. All samples obtained from the different tents presented the same macroscopic pattern, according to the pharmacopoeia, except the tents N°2 and N°4, where the coloration was brown. Regarding the

determination of the moisture content, the sixteen samples from the four tents failed because they presented percentages well below the limit established in the literature. In the foreign material and total ash tests, all samples were approved according to the specifications of the Brazilian pharmacopoeia. In phytochemical screening, there were differences in secondary metabolites between samples obtained from different tents. These results show evidence of consumer exposure to the real risk of improper plant material consumption, associated with poor sanitary conditions in public markets and free markets.

**KEYWORDS:** Phytotherapy. Secondary metabolites. Public Markets.

## 1 | INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o interesse pela Fitoterapia teve um aumento considerável entre usuários, pesquisadores e serviços de saúde. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% usam plantas medicinais ou preparações destas. Desde então, a OMS tem expressado a sua posição a respeito da necessidade de valorizar a utilização de plantas medicinais e na atenção básica à saúde (ROSA et al., 2011).

Diante deste contexto, o interesse popular e institucional vem crescendo no sentido de fortalecer a fitoterapia. No Brasil, a partir da década de 80, diversas legislações foram elaboradas enfatizando a introdução de plantas medicinais e fitoterápicos na atenção básica no sistema público. Nesse sentido, em 2006, o Ministério da Saúde estabeleceu a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS) que trata da implementação de ações e serviços relativos a práticas medicinais complementares, dentre elas a fitoterapia. Essa política tem papel importante na saúde pública brasileira, pois fortalece e amplia ações voltadas para a utilização racional das práticas complementares. Considera-se droga vegetal toda planta medicinal, ou suas partes, que contenham as substâncias, responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta, estabilização, a secagem, podendo estar na forma íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada (BRASIL, 2010).

Dentre as plantas de grande consumo popular encontra-se a espécie vegetal *Schinus terebinthifolius*, que possui distribuição tropical e subtropical, é originária da América do Sul, nativa do Brasil, Paraguai, Uruguai e leste da Argentina). é conhecida popularmente como aroeira-da-praia, aroeira-precoce, aroeira-mansa, aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira, aroeira-do-brejo, aroeira-negra, aroeira-branca, aroeira-do-campo, é pertencente à família vegetal *Anacardiaceae*. Segundo o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, o farmacógeno da espécie *Schinus terebinthifolius* são as cascas do caule secas. No entanto, folhas, frutos e raízes também são utilizados em remédios na medicina popular. Os extratos de *Schinus terebinthifolius* apresentaram atividade anti-

inflamatória, cicatrizante, antioxidante e antimicrobiana (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A RDC nº 10, publicada em 09 de março de 2010, que dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), foi estabelecida considerando-se a necessidade de garantir e promover a segurança, a eficácia e a qualidade no acesso dessas plantas medicinais sob forma de drogas vegetais (BRASIL, 2010).

Assim, a qualidade físico-química da fabricação de produtos naturais possui responsabilidade ligada às várias etapas de produção dos organismos medicinais. As condutas erradas no setor primário, a ausência de controle de qualidade no setor secundário e a armazenagem incorreta no setor terciário, isoladas ou relacionadas são os indicadores da falta de qualidade dos fitoterápicos (GOMES et al., 2015).

Há uma grande demanda pela procura dessas plantas medicinais e é necessário realizar um controle de qualidade, minimizando assim possíveis erros durante as formulações. (CAVALLARI et al., 2013).

A comercialização e o uso de plantas medicinais são conhecidos e discutidos no Brasil e no mundo. Essa prática atende a uma diversidade populacional, entre eles o consumidor individual, vendedores de feiras livres e mercados. A diversidade da flora nativa, a condição socioeconômica da população, a cultura popular das propriedades terapêuticas das plantas são fatores que têm mantido e impulsionado cada dia mais o comércio informal de plantas medicinais, sendo a maioria comercializada somente pelo nome popular (ALVES, 2016).

Entretanto, para que haja uma boa utilização dos medicamentos naturais é necessário que o controle de qualidade desses produtos seja mantido desde a colheita até a estocagem. Desse modo, o armazenamento, as formas de utilização, a contaminação de agentes físicos externos como pesticidas, e o crescimento microbiológico podem auxiliar no processo toxicológico exógeno desses vegetais (CAMPOS et al., 2016).

Assim como qualquer outro medicamento, aqueles baseados em plantas devem comprovar sua eficácia e segurança para uso, exigindo que procedimentos de controle de qualidade sejam estabelecidos em toda a sua cadeia produtiva, desde o seu plantio até a droga vegetal ou fitoterápica pronta para dispensação (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2014).

O presente estudo teve como objetivo avaliar se as amostras de aroeira obtidas no Mercado central de São Luís/Ma, atendem as especificações de qualidade descritas na literatura.



## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta, local de estudo e preparo da amostra vegetal

Foram analisadas 16 (dezesesseis) amostras da espécie *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) comercializadas no mercado central da cidade de São Luís – Ma, adquiridas de 4 (quatro) barracas diferentes. As amostras, consistindo em cascas secas do caule foram separadas em sacos plásticos, mantidas em condições adequadas para a realização de análises. Todos os testes foram realizados em triplicata na Farmácia Universitária Dra. Terezinha Rêgo da Universidade Ceuma – São Luís, Ma.

### 2.2 Caracterização morfológica

As amostras comerciais foram, em separado, distribuídas por quarteamento e, em seguida, submetidas à análise das características macroscópicas de acordo com a literatura (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014); através da análise das características morfológicas (macroscópicas).

### 2.3 Preparação dos extratos e análise fitoquímica preliminar

O extrato hidroalcoólico de Aroeira foi preparado, a partir da entrecasca seca. O material vegetal (8.000g de entrecasca seca de Aroeira) foi colocado para secagem em temperatura ambiente; depois triturado com faca e colocado durante 24 horas em estufa com temperatura entre 45°C e 50°C para retirar a umidade. Em seguida, foi submetido a processo de moagem, com obtenção de pó. Este material foi pesado e depositado em recipiente de vidro com adição de solução hidroalcoólica a 70% na proporção de 1:3 do pó. Os extratos permaneceram em extração por 7 (sete) dias, com agitação diária. Finalizado o período, os extratos foram submetidos a ensaios qualitativos como forma de avaliar a integridade química. Os testes foram realizados por reações qualitativas de complexação química com reagentes específicos, conforme descrito em Matos (1997), foram investigados a presença de: 1) fenóis; 2) taninos hidrolisáveis e condensados (reação com cloreto férrico); 3) flavonoides (teste de mudança de pH, com hidróxido de sódio, ácido sulfúrico, com magnésio granulado e ácido clorídrico), 4) saponinas e índice de espuma.

### 2.4 Determinação de material estranho

As amostras selecionadas foram espalhadas em camada fina sobre a superfície plana, em seguida foi separada manualmente os materiais estranhos à droga, inicialmente a olho nu, e em seguida, com o auxílio de uma lente de aumento. Foi pesado o material estranho separado e determinado a sua porcentagem com base no peso da amostra submetida ao ensaio. Segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª edição, 2010, a matéria

estranha à droga é classificada em três tipos: partes do organismo ou organismos dos quais a droga deriva, excetuados aqueles incluídos na definição e descrição da droga, acima do limite de tolerância especificado na monografia, quaisquer organismos, porções ou produtos de organismos além daqueles especificados na definição e descrição da droga, em sua respectiva monografia, e impurezas de natureza, minerais ou orgânicas, não inerentes à droga. Cujos esses contaminantes macroscópicos devem ser avaliados, e o limite máximo não pode exceder 2%.

## 2.5 Determinação de umidade

Para a realização desta avaliação, cada amostra a ser analisada foi, inicialmente triturada em pedaços bem pequenos, em seguida pesou-se 3g da amostra dessecada em cadinho previamente dessecado e transferido para a estufa a 103°C durante três horas. Após a finalização das três horas, foi retirado da estufa, deixados esfriar dentro do dessecador e pesados. Depois foi colocado novamente por mais meia hora, até finaliza em peso constante. Foi calculado a porcentagem de água à droga seca ao ar. O teor de umidade foi determinado de acordo com o método descrito na Farmacopeia Brasileira 5ª edição, 2010, que descreve o limite de água na faixa de 8 a 14%.

## 2.6 Determinação de cinzas totais

Foi pesado, exatamente cerca de 3g da amostra pulverizada, logo após transferido para o cadinho previamente tarado e levado a mufla a 400°C por 60 minutos. Foi resfriado o cadinho em dessecador e pesado as cinzas. A determinação quantitativa das cinzas totais foi realizada também de acordo com o método descrito na Farmacopeia Brasileira 5ª edição, (2010), que descreve que o limite é de 8 % para cinzas totais.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes de autenticidade são realizados preferencialmente, através da análise das características morfológicas (macroscópicas), comparando-se com a descrição padrão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). As cascas apresentaram-se revertidas por uma casca grossa, em pedaços curvos com superfície externa de cor parda, bastante rugosa com fendas no sentido longitudinal e transversal formando escama. A superfície interna apresentou-se estriada longitudinalmente, de coloração avermelhada e com a presença de um material resinoso. Essas características estão de acordo para a espécie (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Todas as amostras obtidas das diferentes barracas apresentaram o mesmo padrão macroscópico, segundo a farmacopeia, com exceção as barracas N°2 e N°4, onde a coloração apresentou-se marrom. As diferenças e variações das amostras analisadas podem indicar falhas nos processos de cultivo, origem, período e condições de coleta ou processo de secagem (MARTINELLI et al., 2018). Entretanto, mesmo

havendo algumas variações de características morfológicas, estas amostras podem ser consideradas autênticas, indicando apenas alterações na qualidade da espécie vegetal (Figura 1).



Figura 1. Característica macroscópica das cascas de *Schinus terebinthifolius* (aroeira)

Os resultados da análise fitoquímica preliminar dos extratos foram obtidos através de reações com a possibilidade de visualização de processos específicos, como o desenvolvimento de coloração ou precipitado característico. Todas as amostras das 4 barracas revelaram a presença de fenóis, saponinas e flavonoides, entretanto, apenas a barraca de número 3 obtivemos a presença de taninos (condensados e hidrolisáveis), além da forte formação de espuma, característico da presença de saponinas (Tabela 1). Desse modo, a presença metabólitos secundários relevantes e característicos em cascas de *Schinus terebinthifolius*, também serve como parâmetro de autenticidade, além de considerar a integridade da espécie vegetal (PROVENSÍ et al., 2018).

Alguns estudos corroboram com nossos achados, pela presença de flavonóis (galocatequinas e catequinas), taninos e saponinas (NOCCHI et al., 2016; PILATTI et al., 2018; Carvalho et al., 2009). Tanto as folhas como as cascas de aroeira são ricas em taninos, a única diferença é em relação a presença de saponinas, pois estas ocorrem apenas em cascas (Carvalho et al., 2013). Nossos resultados revelam a presença de todos os metabólitos secundários nas amostras da barraca 3, incluindo taninos e saponinas, que desempenham um papel fundamental na atividade terapêutica como cicatrizante e anti-inflamatória. Os taninos são encontrados em grande quantidade nessa espécie vegetal (DA SILVA et al., 2018). Dessa forma, pode ser caracterizado como um marcador químico atestando sua qualidade (DA SILVA et al., 2018). Esses achados indicam uma diferença de constituintes e, conseqüentemente, na ação terapêutica pretendida pelos consumidores. Vale destacar que a adulteração em amostras vegetais comercializadas em mercados públicos é uma prática comum, devido à falta de fiscalização, podendo ocorrer

a mistura com outras espécies vegetais, interferindo assim, na composição fitoquímica (LEAL-COSTA et al., 2018).

COMPOSTOS QUÍMICOS								
Amostras	Fenóis	Taninos		Antocianidinas	Auronas	Leucocianidinas	Flavonóis	Saponinas
		Hidrolisáveis	Condensados					
Barraca 1	++	-	-	++	+++	++	++	+
Barraca 2	++	-	-	+	++	++	++	+
Barraca 3	+++	+	+	-	+++	+++	+++	+++
Barraca 4	+	-	-	+	+++	++	+	+

\*Barraca 1; Barraca 2; Barraca 3; Barraca 4. Legenda: +++ = fortemente positivo; ++ = moderadamente positivo; + = fracamente positivo; - = negativo.

Tabela 1. Prospecção fitoquímica do extrato hidroalcoólico das amostras adquiridas no mercado central da cidade de São Luís - MA, Brasil, vendidas como aroeira.

A partir do método gravimétrico de dessecação em estufa, as amostras foram submetidas pesagens sucessivas e a cálculos de porcentagem, onde pôde-se definir a quantidade de água em relação à droga seca ao ar. As dezesseis amostras das quatro barracas foram reprovadas, apresentando percentuais muito abaixo do limite estabelecido em literatura, que determina o teor de umidade de 8 à 14% para cascas quando transformadas em drogas vegetais (FARMACOPEIA, 2010) (Tabela 2). Estudos anteriores realizados na cidade de São Luís, indicam que há uma alteração de umidade em amostras de aroeira obtidas em mercados públicos. Amaral (2003) relata o aumento da umidade em diferentes drogas vegetais, incluindo aroeira (AMARAL et al., 2003). Estudos conduzidos por Milena (2015), também revelam aumento da umidade. Entretanto, nossos resultados demonstraram a baixa umidade presente nas amostras comerciais, diferentemente dos estudos anteriores, essa diferença pode estar relacionada a processos inadequados de secagem e condições impróprias durante a comercialização (AMARAL et al., 2003). O teor de umidade é uma medida utilizada para assegurar a qualidade de um material vegetal, se não manter os parâmetros de qualidade não apresentarão constância de ação terapêutica (SOUZA, 2018).

Na determinação de cinzas totais, todas as amostras encontram-se dentro do limite estabelecido pela literatura (até 8%) (Tabela 2). O teor de cinzas, permite verificar as

impurezas inorgânicas não voláteis que estão presentes como contaminantes da droga vegetal. Os minerais ou cinzas são obtidos através do processo de incineração, ou seja, da queima da matéria orgânica de uma amostra, após esse procedimento e com outras análises e possível obter a quantidade de componentes específicos da matéria mineral da amostra, como o cálcio (Ca), sódio (Na), potássio (K), cloro (Cl) etc. (BETIM et al., 2018). Os minerais são importantes para a saúde e garantem o equilíbrio metabólico, além de presentes nos organismos são necessários em pequenas quantidades diárias e estes podem ser considerados componentes essenciais (RISTOW, 2015).

Na análise de materiais estranhos, apenas as amostras das barracas de N<sup>o</sup>1 e N<sup>o</sup>4 foram encontrados e pesados os materiais estranhos, segundo os critérios da farmacopeia que preconiza uma tolerância de 2%. Trabalhos de verificação da pureza de matéria prima vegetal apontam como maior problema a impureza, a matéria prima vegetal pode apresentar elementos estranhos, comumente são partes do próprio vegetal ou de outra espécie (Farmacopeia, 2010). Adulteração, substituição por outras plantas, contaminação com metais tóxicos, preparações inadequadas e denominações vernaculares regionais são os problemas mais comuns com as plantas medicinais, comprometendo assim a eficácia da droga vegetal e por fim afetando a segurança do usuário (DO NASCIMENTO et al., 2018).

AMOSTRAS*	Teor de matéria estranha (%)**	Teor de cinzas totais (%)	Teor de umidade (%)
<b>Barraca 1</b>	1,2% ± 1,58	1,3% ± 0,21	0,8% ± 0,7
<b>Barraca 2</b>	ND	0,3% ± 0,21	2% ± 0,3
<b>Barraca 3</b>	ND	1% ± 0,21	5% ± 0,4
<b>Barraca 4</b>	0,5% ± 1,58	1,3% ± 0,21	2% ± 0,4

Tabela 2. Resultados do controle de qualidade, média obtida através de análises executadas em triplicatas, de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira), adquiridas no mercado central da cidade de São Luís - MA, Brasil.

ND – Não detectável

## 4 | CONCLUSÃO

Em suma, os testes desenvolvidos neste trabalho são de suma importância no controle da qualidade de drogas vegetais vendidas em mercados públicos, uma vez que foram observadas alterações fitoquímicas e no teor de umidade das amostras de aroeira comercializadas, levando o consumidor ao risco real de consumo de material vegetal impróprio, associado às precárias condições higiênico-sanitárias dos mercados públicos e feiras livres são fatores que contribuem para problemas de Saúde Pública, comprovando a necessidade da implementação de uma legislação que regulamente o comércio de plantas medicinais em mercados públicos, e medidas de fiscalização, vigilância e controle

de qualidade das drogas vegetais comercializadas e utilizadas para fins terapêuticos que visam garantir a segurança ao consumidor.

## REFERÊNCIAS

ANVISA. **Agência Nacional De Vigilância Sanitária**. Farmacopeia Brasileira, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010b.

BRASIL. ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 14, de 31 de março de 2010**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 0 de abr. de 2010b.

BRASIL. ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 10, de 09 de março de 2010**. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 10 de ma . De 2010a.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. 5ª. Ed. Brasília, 2010, v.1, Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

FIGUEREDO, A.C., GURGEL, D.G.I., JUNIOR, G.D.G. **A Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios**. Rev. de Saúde Coletiva, v. 24, 2014.

RISTOW, A. M. **Controle físico – químico de POA – cinzas**. 2015. 27p.

CAVALLARI, A.A. *et al.* **Diversidade e utilização de plantas medicinais na comunidade Santa Lúcia, zona rural do Município de Alta Floresta, MT**. Cadernos de Agroecologia, 2013.

GONÇALVES, A.P.S.; LIMA R.A **Identificação das classes de metabólitos secundários do extrato etanólico de *Piper tuberculatum* JACQ**. South American Journal of Basic Education, Technical and Technological, v. 3, n. 2, 2016.

ALVES, C.A.B; SILVA, S. **Comercialização de plantas medicinais: um estudo etnobotânico na feira livre do município de Guarabira, Paraíba, nordeste do Brasil**. Gaia Scientia, v.10, 2016.

ROSA, C., CÂMARA, S.G., BÉRIA, J.U. **Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde**. Ciências & Saúde Coletiva, v, 16, n. 1, p. 311. 2011.

PILATTI, D. M. *et al.* **Comparison of the phytochemical profiles of five native plant species in two different forest formations**. Brazilian Journal of Biology, 2018.

DA SILVA, E. B. *et al.* **Efeitos Terapêuticos da Utilização da Aroeira da Praia (*Schinus Terebinthifolius* Raddi): uma Revisão da Literatura**. International Journal of Nutrology, v. 11, n. S 01, p. Trab361, 2018.

DIAS, E.G.E. *et al.* **Qualidade e autenticidade de folhas de chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus*) oriundas de fornecedores de São Paulo**. Rev. Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 15, n. 2, 2013.

GOMES, E.C., NEGRELLE, R.R.B. **Análise da cadeia produtiva do capim limão: estudo de caso**. Rev. Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 17, n. 2, 2015.

AMARAL, F.M.M. *et al.* **Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/ Maranhão**. Revista brasileira de farmacognosia, v. 13, p. 27-30, 2003.

BETIM, F. C. M. *et al.* **Parâmetros de controle de qualidade de *Ocotea nutans* (Nees) Mez (canela) e obtenção de extratos e frações**. Revista Cubana de Plantas Medicinales, v. 23, n. 1, 2018.



MATOS, F.J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, 141p.

COSTA, I.C.F. **A importância da atenção farmacêutica no uso de fitoterápicos emagrecedores contendo sene (CASSIA angustifólia Vanh)**. Rev. Especialize, v.01, 2015.

PROVENSI, L. R. *et al.* **Controle de qualidade e estudo fitoquímico de Justicia thunbergioides (lindau) Leonard (Acanthaceae)**. CIPEEX, p. 446-457, 2018.

SOUZA, L. M. C. **Caracterização da droga vegetal *Ageratum conyzoides* L. (asteraceae) e capacidade antioxidante**. Anais Seminário de Iniciação Científica, n. 20, 2018

LEAL-COSTA, M. V. *et al.* **Avaliação da qualidade das plantas medicinais comercializadas no Mercado Municipal de Campos dos Goytacazes-RJ**. Revista Fitos, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Monografia da espécie *Schinus terebinthifolius* RADDI (aroeira-da-praia)**. Brasília: Ministério da Saúde e Anvisa, 2014.

MIRANDA, M. V.; **Controle de qualidade de amostras comerciais de *Schinus terebinthifolius* RADDI (AROEIRA) adquiridas em mercados públicos da cidade de São Luís- Ma**. São Luís, Biota Amazônia Open Journal System 2016.

CARVALHO, M. G. *et al.* ***Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 15, n. 1, p. 158-169, 2013.

NASCIMENTO, N. M; CARDOSO FILHO, J. E. P. **Controle de qualidade de amostras de *Harpagophytum procumbens* (garra do diabo), comercializadas na cidade de Santos, SP, Brasil**. Unisanta Health Science, v. 2, n. 1, p. 86-96, 2018.

NOCCHI, S. R. *et al.* **In vitro cytotoxicity and anti-herpes simplex virus type 1 activity of hydroethanolic extract, fractions, and isolated compounds from stem bark of *Schinus terebinthifolius* Raddi**. Pharmacognosy magazine, v. 12, n. 46, p. 160, 2016.

MARTINELLI, S. *et al.* **Controle de qualidade da droga vegetal “espinheira-santa” encontrada em mercados de Sinop/MT**. FACIDER-Revista Científica, n. 1, 2018.

CAMPOS S. C., SILVA C.G., CAMPANA P.R.V., ALMEIDA V. L. **Toxicidade de espécies vegetais**. Rev. Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 18, n. 1, 2016.

SOUZA-MOREIRA, T.M., SALGADO, H.R.N., PIETRO, R.C.L.R. **O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais**. Rev. Bras. Farmacognosia, v. 20, n. 3, p. 435-440, 2014.



## DELINEAMENTO DE DERMOCOSMÉTICOS PARA ACNE COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE MELALEUCA E CRAVO-DA-ÍNDIA

*Data de aceite: 05/06/2020*

*Data de submissão: 13/06/2020*

### **Lucas Henrique Nascimento Souza**

Iniciação Científica, Universidade São Francisco,  
USF

Bragança Paulista, São Paulo, Brasil

### **Emily Jhayane Silva**

Iniciação Científica, Universidade São Francisco,  
USF

Bragança Paulista, São Paulo, Brasil

### **Iara Lúcia Tescarollo**

Curso de Farmácia da Universidade São  
Francisco, USF

Grupo de Pesquisas em Meio Ambiente e  
Sustentabilidade (GPMAS)

Bragança Paulista, São Paulo, Brasil

**RESUMO:** A acne vulgar é uma das afecções cutâneas mais frequentes na população mundial com importantes repercussões psicossociais. De acordo com a gravidade são adotados algoritmos terapêuticos com objetivo de proporcionar a resolução das lesões cutâneas da acne, prevenir o desenvolvimento de cicatrizes e reduzir o aparecimento de novas lesões. Dermocosméticos podem colaborar com o tratamento coadjuvante à terapia

medicamentosa principalmente nos casos de acne leve a moderada. Óleos essenciais como o de melaleuca e cravo-da-índia representam promissoras alternativas de origem vegetal para o tratamento e prevenção dessa patologia. Este estudo teve como objetivo desenvolver e testar dermocosméticos para acne formulados com óleos essenciais de melaleuca e cravo-da-índia incorporados em auto-emulsionante funcional de cristal líquido, a seguir realizar estudo de estabilidade preliminar das fórmulas propostas. Nessa perspectiva, foi possível formular dermocosméticos utilizando óleos essenciais de melaleuca e cravo-da-índia como potenciais ingredientes ativos para acne. Os produtos desenvolvidos demonstraram qualidade e estabilidade físico-química no estudo preliminar e foram bem aceitos na avaliação sensorial.

**PALAVRAS-CHAVE:** Acne Vulgar. Cosméticos. Cristais Líquidos.

### DESIGN OF DERMOCOSMETICS FOR ACNE WITH ESSENTIAL OILS OF MELALEUCA AND CLOVE

**ABSTRACT:** Acne vulgaris is one of the most common skin disorders in the world population with important psychosocial repercussions. According to the severity, therapeutic algorithms

are used in order to provide the resolution of the cutaneous lesions of acne, prevent the development of scars and reduce the appearance of new lesions. Dermocosmetics can help with adjunctive treatment to drug therapy, especially in cases of mild to moderate acne. Essential oils such as tea tree and cloves represent promising alternatives of plant origin for the treatment and prevention of this pathology. This study aimed to develop and test dermocosmetics for acne formulated with essential oils of tea tree and clove incorporated in a functional liquid crystal self-emulsified, then carry out a preliminary stability study of the proposed formulas. In this perspective, it was possible to formulate dermocosmetics using essential oils of tea tree and clove as potential active ingredients for acne. The developed products demonstrated quality and physical-chemical stability in the preliminary study and were well accepted in the sensory evaluation.

**KEYWORDS:** Acne Vulgaris. Cosmetics. Liquid Crystals.

## 1 | INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais tem agregado incrementos tecnológicos na área de dermocosméticos, especialmente para o tratamento de processos e afecções cutâneas, tais como a acne vulgar – doença cutânea manifestada pela presença do agente infeccioso *Cutibacterium acnes*, antes chamado de *Propionibacterium acnes*, que é uma bactéria anaeróbia Gram-positiva presente na pele da maioria das pessoas saudáveis, que em contato com os poros epiteliais promove a inflamação dos folículos pilosos (BHATIA et al., 2004; RIBEIRO, 2010; LYRA, 2019). A acne é doença muito comum e recorrente, caracterizada por cronicidade, inflamação e proliferação bacteriana. Acomete milhares de pessoas em todo mundo, ocorre principalmente na face, no dorso e no tórax. Embora não ofereça riscos à vida, pode levar à formação de cicatrizes inestéticas importantes na face, apresentando significantes repercussões psicossociais e prejuízo na qualidade de vida dos indivíduos (FIGUEIREDO et al., 2011; BHATE; WILLIAMS, 2013; SILVA; COSTA; MOREIRA, 2014; PEREIRA; COSTA; SOBRINHO, 2019). A acne vulgar é classificada clinicamente, em: comedoniana, papulo-pustulosa, nodular cística e acne conglobata. Conforme a gravidade, acne é estadiada em leve, moderada ou grave (RIBEIRO, 2010; SOUZA, et al., 2020)

As lesões acneicas sofrem influência hormonal, principalmente androgênios como a testosterona. Geralmente se inicia na adolescência e envolve quatro principais fatores etiopatogênicos como hiperplasia da glândula sebácea, modificações da queratinização folicular, colonização da unidade pilosebácea por *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*), *Staphylococcus epidermidis* e *Malassezia furfur* e a ação de fatores mediadores da inflamação (RIBEIRO, 2010; PEREIRA; COSTA; SOBRINHO, 2019).

A hiperplasia da glândula sebácea e produção do sebo ocorre por estimulação de hormônios sexuais androgênicos. A enzima 5 $\alpha$ -redutase é responsável pela conversão da

testosterona em dihidrotestosterona, que, por sua vez, modula a secreção sebácea e afeta a queratinização folicular. A produção de mediadores da inflamação também pode estar envolvida no processo de hiperqueratinização (RIBEIRO, 2010). A hiperprodução de sebo pela glândula sebácea favorece a proliferação de bactérias que se multiplicam e libera metabólitos que hidrolisam os triglicerídeos dando origem a ácidos graxos irritativos à parede folicular que promovem uma hiperqueratose e produção de citocinas e quimiocinas que causam a inflamação (GRAHAM et al., 2004). A estimulação da produção de citocinas por *C. acnes* pode ser importante na patogênese da acne inflamatória vulga .

O *C. acnes* é um dos principais comensais prevalentes nos folículos pilosos, prefere condições anaeróbicas, coloniza as regiões com alta produção de sebo e é a principal bactéria envolvida na patogênese da acne (BRÜGGEMANN, 2004; NEVES et al., 2015). Toda a sequência do genoma dessa bactéria Gram-positiva revelou numerosos produtos gênicos envolvidos na degradação de moléculas como sialidases, neuraminidases, endoglicoceramidasas, lipases, as quais favorecem o desencadeamento de processos inflamatórios da acne e outras doenças associadas a *C. acnes* (BRÜGGEMANN, 2004).

As lesões da acne podem provocar baixa autoestima nos indivíduos acometidos, por estas razões é muito importante a aquisição de um tratamento adequado e precoce, que reduza a frequência e gravidade do problema (VAZ et al., 2003). O tratamento da acne é variável conforme o grau de acometimento, podendo ser empregadas terapias de modo isolado ou em combinação. O tratamento farmacológico é aplicado sob a forma tópica ou sistêmica, dependendo da gravidade, a fim de controlar o avanço e evitar sequelas que podem ser mais preocupantes num segundo momento. A maior parte dos tratamentos estéticos apresentam finalidade comedolítica, reduzem a seborreia e a inflamação e ainda eliminam ou melhoram a aparência das cicatrizes de acne (NAST et al., 2016; PEREIRA; COSTA; SOBRINHO, 2019).

O uso de plantas e produtos derivados de origem vegetal como estratégia complementar no tratamento da acne, tem demonstrado grande interesse no campo de pesquisa e inovação. O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), faz parte da família *Myrtaceae* que compreendem cerca de 150 gêneros com aproximadamente 3600 espécies, ocorrendo especialmente na América que possui clima tropical e no Sul da Austrália, onde predomina o clima temperado (AYOOLA et al., 2008). O óleo essencial extraído do cravo-da-índia possui várias substâncias, dentre elas o  $\beta$ -cariofileno com ação bactericida e anti-inflamatória, e o eugenol que corresponde cerca de 78 a 90% do óleo essencial, responsável pela ação anestésica, anti-inflamatória, antimicrobiana, entre outras (AFFONSO et al., 2012). O principal mecanismo descrito para o eugenol, quanto a sua ação bactericida, é devido a sua alta penetrabilidade na membrana citoplasmática, promovendo seu rompimento e aumentando sua permeabilidade não específica, desta forma gerando um extravasamento do conteúdo celular e posterior morte da bactéria. (PAWAR; THAKER, 2006; AFFONSO et al., 2012).

A melaleuca também faz parte da família *Myrtaceae*, ocorrendo principalmente na Ásia, Europa, América do Sul e Austrália (MORESCO, 2014). O óleo essencial (OE) de melaleuca tem sido utilizado como antisséptico tópico para várias infecções da pele (RIBEIRO, 2010), é extraído da *Melaleuca alternifolia*, também conhecida como *Tea tree* (CASTRO *et al.*, 2005). O OE é obtido por hidrodestilação das folhas e possui uma composição química complexa como  $\alpha$ -terpineno;  $\gamma$ -terpineno; 1,8-cineol;  $\alpha$ -terpineol;  $\beta$ -pineno;  $\alpha$ -pineno; limoneno; terpinen-4-ol, este último, o principal componente do OE com maior eficácia antimicrobiana (CARSON *et al.*, 2006; GARCIA *et al.*, 2009; RIBEIRO, 2010; SOUZA, *et al.*, 2020). Por ser efetivo contra *C. acnes* é empregado em produtos para acne de grau leve a moderado. A concentração usual deste óleo em cosméticos varia de 0,5 % a 5 % e nas preparações dermocosméticas entre 5 % a 10 % (GARCIA *et al.*, 2009; RIBEIRO, 2010).

Dermocosméticos podem colaborar com o tratamento coadjuvante à terapia medicamentosa tópica nos casos de acne. Embora o termo dermocosmético e outros similares não sejam contemplados na legislação sanitária vigente (BRASIL, 2015), é importante destacar que são muito utilizados no campo da farmácia magistral. Os dermocosméticos fazem parte de uma categoria de produtos que integram considerações tanto dermatológicas como farmacêuticas (BRASIL, 2015), logo, podem ser usados para tratar ou prevenir acne leve ou moderada, promovendo saúde e beleza à pele (MONTEIRO, 2014; BRASIL, 2015). Diversas alternativas de produtos farmacêuticos magistrais e industrializados estão disponíveis para o tratamento tópico e sistêmico da acne (NETO *et al.*, 2016; PEREIRA; COSTA; SOBRINHO, 2019).

A escolha da base de um dermocosmético é fundamental, principalmente para peles oleosas e acneicas, dado que o emprego de produtos comedogênicos e gordurosos favorecem o aparecimento da acne. Bases auto-emulsionantes funcionais de cristal líquido configuram opção inovadora para veiculação de ativos para a acne.

A mistura de tensoativos com água, em determinadas proporções, na ausência ou na presença de substâncias lipofílicas pode formar diferentes tipos de agregados, entre os quais estão as mesofases liotrópicas denominadas cristais líquidos. As emulsões com cristais líquidos têm sido veículos de grande interesse para as indústrias farmacêuticas e cosméticas. As fases líquido-cristalinas são sistemas fluídos complexos anisotrópicos que existem como resultado da ordenação das moléculas de tensoativo, armazenando água entre suas lamelas. Essas estruturas promovem maior estabilização de emulsões, aumento na viscosidade do sistema e forma uma interface ao redor do glóbulo impedindo a coalescência ou separação e fases (ATTWOOD, 2003)

Os óleos essenciais são produtos do metabolismo secundário da planta e são conhecidos pelas suas propriedades antimicrobianas. A incorporação de compostos da biodiversidade agrega valor as formulações dermocosméticas. Os óleos essenciais são uma boa opção devido à semelhança estrutural com o equilíbrio hidrolipídico da pele.

Este estudo teve como objetivo desenvolver e testar protótipos de dermocosméticos para acne formulados com óleos essenciais de melaleuca e cravo-da-índia incorporados em bases auto-emulsionantes funcionais de cristal líquido, a fim de comparar a influência da substituição de componentes sintéticos por insumos certificados como orgânicos e a seguir realizar estudo de estabilidade preliminar das fórmulas propostas.

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Desenvolvimento das amostras

As matérias-primas foram selecionadas e denominadas de acordo com *International Nomenclature Cosmetics Ingredients* (INCI). Foram preparadas duas fórmulas para comparação do efeito causado pela variação dos emolientes, conservantes e modificadores do sensorial. Os óleos essenciais de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) foram avaliados antecipadamente por cromatografia gasosa em condições padronizadas.

Os óleos foram obtidos por destilação por arraste à vapor das folhas. O óleo essencial de melaleuca apresentou a seguinte composição:  $\alpha$ -thujeno 1,1%;  $\alpha$ -pineno 3,1%;  $\beta$ -pineno 1,2%; mircenol 0,9;  $\alpha$ -terpineno 14,4%; p-cimeno 3,0%; limoneno 3,2%; 1,8-cineol 1,4%;  $\gamma$ -terpineno 25,1%; terpinoleno 4,6%; terpinen-4-ol 28,1%;  $\alpha$ -terpineol 1,7%;  $\beta$ -gurjuneno 1,1%; viridiflorino 1,4%; cis-calameno 1,9%. O óleo essencial de cravo-da-índia apresentou a seguinte composição: eugenol 88,5%; cariofileno 8,6% e acetato de eugenila 1,7.

Para a seleção das formulações-teste empregou-se a literatura especializada na área contemplando os dados farmacotécnicos para a produção emulsões cremosas.

Os dermocosméticos foram produzidos através da técnica de inversão de fases seguida da incorporação do OE emulsionado em tensoativo. As formulações foram avaliadas sob o ponto de vista farmacotécnico, segundo critérios do formulador, mercadológicos e outros referendados pela literatura (FERREIRA; BRANDÃO, 2011). A Tabela 1 apresenta as matérias-primas e suas respectivas concentrações (p/p).

COMPONENTES	F1 (%)	F2 (%)	Função
Cetearyl Oliviate (and) Sorbitan Oliviate (OLIVEM® 1000)	7,00	7,00	Base emulsionante O/A não-iônica natural ECOCERT
Tribehenin PEG-20 Esters (EMULIUM® 22)	1,00	-	Base emulsionante O/A não-iônica
Theobroma Grandiflorum Seed Butte MANTEIGA DE CUPUAÇU	-	1,00	Emoliente natural
Glycerin GLICERINA	5,00	5,00	Umectante hidratante ECOCERT

Dissodium EDTA EDTA dissódico	0,10	-	Sequestrante
Methylparaben METILPARABENO	0,18	-	Conservante
Propylparaben PROPILPARABENO	0,05	-	Conservante
Caprylhydroxamic Acid (and) Caprylyl Glycol (and) Glycerin SPECTRASTAT™	-	1,00	Conservante natural ECOCERT
DL- $\alpha$ -tocopherol-acetate VITAMINA E	1,00	1,00	Antioxidante ECOCERT
Decametilciclopentassiloxano (ciclometicone), Dimethicone Crosspolymer SILICONE DC 9040	1,50	-	Modificador sensoria
Cyclopentasiloxane SILICONE DC 245	2,00	-	Modificador sensoria
Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer ARISTOFLEX AVC	1,00	-	Espessante
Xanthan gum GOMA XANTANA	-	0,50	Espessante natural ECOCERT
Starch (and) Polymethylsilsesquioxane DRY-FLO PURE	5,00	-	Modificador sensoria
Tapioca Starch TAPIOCA PURE	-	5,00	Modificador sensorial natura ECOCERT
Óleo essencial de Melaleuca TEA TREE ESSENTIAL OIL	0,50	0,50	Ativo com ação antisséptica
Óleo essencial de cravo-da-índia CLOVE ESSENTIAL OIL	0,10	0,10	Ativo com ação antisséptica
Aqua qsp	100,00	100,00	Veículo

Tabela 1: Composição, concentração (%) e função dos componentes nas formulações.

\*q.s.p: quantidade suficiente para. (Fonte: Dados da Pesquisa)

Após o preparo, cada amostra foi acondicionada em bisnagas de 60g produzidas em polietileno de baixa e alta densidade (25% PEAD e 75% PEBD) com tampa Flip Top em polipropileno (PP), a seguir foram rotuladas. Amostra de cada lote foi armazenada em diferentes condições de estresse sendo: protegida da luz em temperatura ambiente variando entre  $25^{\circ} \pm 5^{\circ}C$  sendo esta amostra tomada como referência de comparação; câmara de estabilidade ( $40^{\circ} \pm 2^{\circ}C$ ); geladeira ( $5^{\circ} \pm 2^{\circ}C$ ), e exposição à luz natural indireta ( $25^{\circ} \pm 5^{\circ}C$ ) por um período de 28 dias. As formulações-teste apresentando sinais de instabilidade (precipitação, turvação) adicionalmente às propriedades organolépticas consideradas inadequadas, segundo critérios do formulador e também referendadas pela literatura foram rejeitadas pelo estudo (BRASIL, 2004, BRASIL, 2007; MOUSSAVOU e DUTRA, 2012).

## 2.2 Aspecto

Cerca de 2,0 gramas da amostra foram transferidas para placa de Petri, após prévia homogeneização, observou-se o aspecto a partir dos seguintes critérios: normal, sem



alteração (SA); levemente modificado (LM); modificado (MO); intensamente modificado (IM) (BRASIL, 2007; MOUSSAVOU e DUTRA, 2012).

### 2.3 Odor

Cerca de 2,0 gramas da amostra foram transferidas para placa de Petri, após prévia homogeneização comparou-se o odor com a amostra de referência segundo os critérios: normal, sem alteração (SA); levemente modificado (LM); modificado (MO); intensamente modificado (IM) (BRASIL, 2007; MOUSSAVOU e DUTRA, 2012).

### 2.4 Cor

Cerca de 2,0 gramas da amostra foram transferidas para placa de Petri, após prévia homogeneização, observou-se o aspecto a partir dos seguintes critérios: normal, sem alteração (SA); levemente modificada (LM); modificada (MO); intensamente modificada (IM) (BRASIL, 2007; MOUSSAVOU e DUTRA, 2012).

### 2.5 Sensação tátil

O teste foi realizado aplicando-se cerca de 2,0 g do produto no dorso da mão, depois desta ter sido lavada e seca. Avaliaram-se os resultados das características sensoriais de acordo com os critérios do formulador conforme a escala: pouco agradável (PA); agradável (AA); muito agradável (MA); pegajoso (PJ); áspero (AP).

### 2.6 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada utilizando-se potenciômetro acoplado a eletrodo de vidro sensível ao pH. Pesou-se 5,0 gramas da amostra diluindo-se em 50 mL de água destilada. Colocou-se o eletrodo previamente calibrado dentro da solução, medindo-se o pH logo em seguida. O teste foi realizado em triplicata calculando-se a média e o desvio-padrão (BRASIL, 2007; MOUSSAVOU e DUTRA, 2012).

### 2.7 Teste de homogeneidade por centrifugação

O teste foi realizado centrifugando-se 5,0 g da amostra a 3000 rpm por 30 minutos sob temperatura ambiente, utilizando-se centrífuga. Em seguida avaliou-se visualmente a homogeneidade, o nível de afloramento, sedimentação ou separação de fases. Após o teste o produto foi classificado segundo os seguintes critérios: normal, sem alteração (AS); levemente separado, precipitado ou turvo (LS); separado (SE), totalmente separado, precipitado ou turvo (TS) (BRASIL, 2007; MOUSSAVOU e DUTRA, 2012).

### 2.8 Espalhabilidade

O teste de espalhabilidade também foi realizado empregando-se metodologia proposta por Borghetti e Knorst (2006) sendo calculado conforme Equação  $Ei = d^2 \cdot \frac{\pi}{4}$ , onde  $Ei$



corresponde à espalhabilidade da amostra para o peso  $i$  em gramas por  $\text{mm}^2$ ;  $d$  é o diâmetro médio ( $\text{mm}^2$ );  $p$  é 3,14. Por esse método, realiza-se a leitura dos diâmetros abrangidos pela amostra em um sistema formado por uma placa molde circular de vidro com orifício central, sobre outra placa de vidro com fundo milimetrado. A adição de pesos de 250g a 1000g, promove o espalhamento do produto que pode ser medido como extensibilidade (BORGHETTI; KNORST, 2006; ISAAC et al., 2008). O fator de espalhabilidade foi calculado pela Equação  $Ef = \frac{\sum Ei}{\sum mi}$ . De acordo com a Equação 2,  $Ef$  é o fator de espalhabilidade;  $\sum Ei$  é a somatória da espalhabilidade e  $\sum mi$  é a somatória do peso acumulado. Esta técnica foi realizada no tempo zero, com a amostra em temperatura ambiente ( $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ) e após 28 dias com as amostras em temperatura ambiente ( $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ), em estufa ( $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ) e em geladeira ( $5^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ).

## 2.9 Avaliação microbiológica

Os meios de cultura utilizados para o crescimento de microrganismos mesófilo foram: Ágar Triptona de Soja (TSA) e Ágar Sabouraud-destrose (SA) que propiciam condições favoráveis para o desenvolvimento de bactérias e fungos, respectivamente. Prosseguiu-se o procedimento com a diluição seriada da amostra, obtendo-se diluições de 1:10, 1:100, 1:1000, e a partir disto realizou-se o processo de incubação em triplicata com pipetagem de 0,1 mL das diluições nas placas, espalhando-se com o auxílio de alça de Drigalski através da técnica de *Spread Plate*. As placas com meio TSA foram incubadas por três dias à  $32^\circ\text{C} \pm 2,5^\circ\text{C}$ , e as placas com meio SA por 5 dias à  $28^\circ\text{C}$  (BRASIL, 1998). O teste foi aplicado para determinar a qualidade microbiológica intrínseca do produto desenvolvido. A contagem de microrganismos mesófilos totais aeróbios em cosméticos de grau II deve ser  $< 1000$  UFC/g de produto, máximo de 5000 UFC/g de produto; Ausência de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e fecais em 1 g ou mL de produto (BRASIL, 1998).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A manipulação farmacêutica por ser uma operação muitas vezes complexa e de enorme responsabilidade, necessita de um suporte técnico minucioso, além de pesquisas que concentrem informações seguras dos aspectos relacionados à farmacotécnica e qualidade dos produtos. Neste trabalho foram propostas diferentes bases auto-emulsionantes funcionais de cristal líquido no desenvolvimento de dermocosméticos de melaleuca e cravo-da-índia para tratamento da acne vulgar.

A descrição dos componentes da fórmula obedeceu a Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos (INCI: *Internacional Nomenclature Of Cosmetic Ingredients*). O INCI trata-se de um sistema internacional de codificação para designar os ingredientes

utilizados em produtos cosméticos, reconhecido e adotado mundialmente (BRASIL, 2015).

A amostra F1 foi formulada incluindo alguns insumos de origem sintética. Na amostra F2 prevaleceram as matérias-primas reconhecidas por organizações certificadoras de orgânicos (ECOCERT). O *Cetearyl Olivat (and) Sorbitan Olivat* é um emulsionante suave, formado a partir de uma esterificação suave dos grupos de ácidos graxos do óleo de oliva estabilizado com sorbitol e álcool cetearílico. Este composto permite o preparo de cremes e loções de óleo em água através da formação de estruturas de cristais líquidos. Esta organização confere às emulsões um alto grau de hidratação, devido a água que é mantida dentro da rede lamelar. Estudos mostram que a retícula de cristal líquido aumenta a capacidade de hidratação da pele, tanto a curto como a longo prazo estabilizando a fase lipídica. Esta base melhora as características do produto final principalmente em termos de sensorial (SOUZA; ANTUNES JR, 2016).

O *Tribehenin PEG-20 Esters* foi utilizado como emulsionante auxiliar e emoliente, a glicerina como umectante; EDTA dissódico como sequestrante; metilparabeno e propilparabeno como conservantes, *DL- $\alpha$ -tocopherol-acetate* como antioxidante; *decametilciclopentassiloxano (ciclometicone)*, *dimethicone crosspolymer* e *cyclopentasiloxane* foram empregados como emolientes e modificadores sensoriais, o *ammonium acryloyldimethyltaurate/VP copolymer* como espessante do sistema (SOUZA; ANTUNES JR, 2016).

Os insumos *starch (and) polymethylsilsesquioxane* e tapioca foram utilizados como modificadores do sensorial. O amido da tapioca possui em sua estrutura propriedades de absorção de suor e de maior adesividade das partículas com a pele, proporcionando sensação de seda sem deixar a pele esbranquiçada. A manteiga do cupuaçu (*Theobroma Grandiflorum Seed Butter*) é um emoliente que proporciona um toque agradável, maciez e suavidade à pele, além de promover hidratação e diminuir a perda de água transepidermal. Contém fitoesteróis principalmente beta-sitosterol que atuam regulando o equilíbrio hídrico e o manto hidrolipídico (SOUZA; ANTUNES JR, 2016).

A goma xantana é um polissacarídeo sintetizado por uma bactéria fitopatogênica do gênero *Xanthomonas*, que apresenta capacidade de formar soluções viscosas e géis hidrossolúveis sendo muito utilizado no segmento de cosméticos orgânicos como espessante e estabilizante (BORGES; VENDRUSCOLO, 2008).

*Glycerin* (Glicerina); *Caprylhydroxamic Acid (and) Caprylyl Glycol (and) Glycerin* é composto pelo ácido caprilhidroxâmico sendo derivado do coco funcionando como conservante e pelo caprilglicol considerado um agente multifuncional com propriedades emolientes e coemulsionante além da porção glicerina que atua como umectante, sendo esta composição utilizada para o controle do crescimento microbiano em produtos, agindo contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e leveduras. Os antioxidantes são substâncias capazes de inibir a oxidação. A vitamina E é um potente antioxidante lipossolúvel conhecido também com  $\alpha$ -tocoferol conferindo a capacidade de atravessar a

membrana celular atuando como sequestrador de radicais livres (SOUZA; ANTUNES JR, 2016).

O uso de óleos essenciais como recurso natural para tratar os processos acneicos se faz eficaz, devido suas atividades antimicrobianas comprovadas contra o *C. acnes* e por permitirem uma penetração eficiente no tecido epitelial através da membrana celular.

A ECOCERT (BRASIL, 2005), organismo de inspeção e certificação a serviço do homem e do meio ambiente no Brasil, define como orgânico o produto que tenha (incluindo a água) no mínimo de 95% de ingredientes vegetais certificados como orgânicos sobre o total de ingredientes vegetais e para produtos com 70% a 95% de ingredientes orgânicos serão classificados em seus rótulos como “Produto Com Ingredientes Orgânicos”. A amostra F2 atende aos requisitos exigidos pela ECOCERT.

As formulações foram avaliadas quanto às características físico-químicas a fim de se estabelecer um grau de comparação dos produtos obtidos. Os estudos realizados tiveram como objetivo a obtenção de dados sobre as características organolépticas, físico-químicas e sensoriais nas distintas formas dermocosméticas que atendam à expectativa do usuário.

O estudo de estabilidade fornece informações que indicam o grau de estabilidade relativa de um produto nas variadas condições a que possa estar sujeito desde sua fabricação até o término de sua validade e auxilia na predição de um problema em potencial relacionado com a fórmula guiando o formulador no desenvolvimento de produtos e triagem das formulações (ISAAC, et al., 2008). Para este protocolo as formulações F1 e F2 foram armazenadas em diferentes condições por um período pré-definido sendo avaliadas em relação ao aspecto, odor, homogeneidade por centrifugação, pH e avaliação tátil. Os resultados podem ser visualizados na Quadro 1.

A análise do aspecto teve como objetivo aferir as alterações das amostras como, homogeneidade, brilho, maciez, presença de bolhas de ar. De acordo com a Quadro 1, pode ser observado neste estudo que as duas amostras propostas não apresentaram alterações. O odor apresentou um parâmetro característico nos dois últimos tempos do teste em estufa, e isto pode ser justificado por uma sensibilidade da formulação ao estresse térmico, mas o mesmo é aceito, já que pequenas alterações são aceitáveis em temperaturas elevadas (BRASIL, 2004). A cor apresentou parâmetros normais nas duas amostras.

A avaliação tátil é responsável por verificar a sensação na pele, durante e após a aplicação de um determinado produto. Foi possível verificar que as amostras propostas mantiveram as suas características durante o estudo com exceção da F2 acondicionada em estufa, a mesma apresentou mais pegajosidade durante e efeito de branqueamento mais evidente. Já na F1 foi exibido um produto de fácil espalhamento oferecendo menos efeito de branqueamento e isto pode ser justificado pelo fato de que a F2 possui componentes de origem natural em sua formulação, com relação a F1 que não possui.

O teste de centrifugação foi realizado como análise preliminar, a fim de determinar qualquer sinal de instabilidade indicativa de necessidade de reformulação (BRASIL, 2004). De acordo com o Quadro 1 é possível dizer que as amostras se mantiveram estáveis, não havendo separação de fases entre as formulações. Observou-se também que não houve alteração significativa do pH em função das diferentes condições de armazenamento. O valor de pH encontrado atende ao esperado. É importante lembrar que o pH da pele é levemente ácido (4,6 – 5,8), o que contribui para sua proteção (HARRIS, 2018).

Temperatura/ Tempo	Ambiente					Geladeira					Estufa					Luz natural indireta				
	(25° ± 5°C)					(5° ± 2°C)					(40° ± 2°C)					(25° ± 5°C)				
	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28	0	7	14	21	28
<b>Formulação F1</b>																				
<b>Aspecto</b>	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
<b>Odor</b>	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	LM	LM	SA	SA	SA	SA	SA
<b>Cor</b>	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	LM
<b>Avaliação tátil</b>	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	PA	PA	AG	AG	AG	AG	AG	
<b>Centrifugação</b>	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
<b>pH</b>	5,2	5,5	5,1	5,6	5,4	5,2	5,3	5,3	5,6	5,6	5,2	5,4	5,2	5,5	5,2	5,2	5,3	5,3	5,6	5,6
<b>Formulação F2</b>																				
<b>Aspecto</b>	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
<b>Odor</b>	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	LM	LM	SA	SA	SA	SA	LM
<b>Cor</b>	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	LM
<b>Avaliação tátil</b>	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	PA	PA	PA	AG	AG	AG	AG	
<b>Centrifugação</b>	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA	SA
<b>pH</b>	5,4	5,5	5,7	5,6	5,5	5,6	5,3	5,6	5,4	5,5	5,6	5,4	5,5	5,5	5,6	5,6	5,3	5,6	5,4	5,5

Quadro 1 – Resultados do estudo de estabilidade preliminar das amostras F1 e F2.

Legenda: Normal, sem alteração (SA); levemente modificado (LM); modificado (MO); intensamente modificado (IM). Sensação tátil: Pouco agradável (A); agradável (AA); muito agradável (MA); pegajoso (PJ); áspero (AP). Itens tarjados indicam alterações ocorridas.

A qualidade microbiológica de um produto cosmético não deve depender unicamente do emprego de conservante, porém o mesmo se faz necessário, visto que a presença de água na formulação predispõe o crescimento de microrganismos. No entanto, além de apresentar eficácia, esse conservante deve ser seguro para o consumidor. O processo de análise microbiológica visa confirmar a ausência de alguns microrganismos ou verificar o limite máximo permitido por lei. Para preparar a amostra foi necessário partir de uma diluição 1:10 de não menos que 1g do produto a ser examinado conforme a contagem do número total de microrganismos mesófilos (BRASIL, 2004). Na análise microbiológica não houve ocorrência de crescimento microbiano após o período de incubação, resultando

que os produtos desenvolvidos possuem uma boa qualidade microbiológica.

A determinação de consistência por espalhabilidade foi usada como opção para avaliar a capacidade de expansão das formulações estudadas sobre uma superfície em função do peso adicionado (Figura 1 e Figura 2).

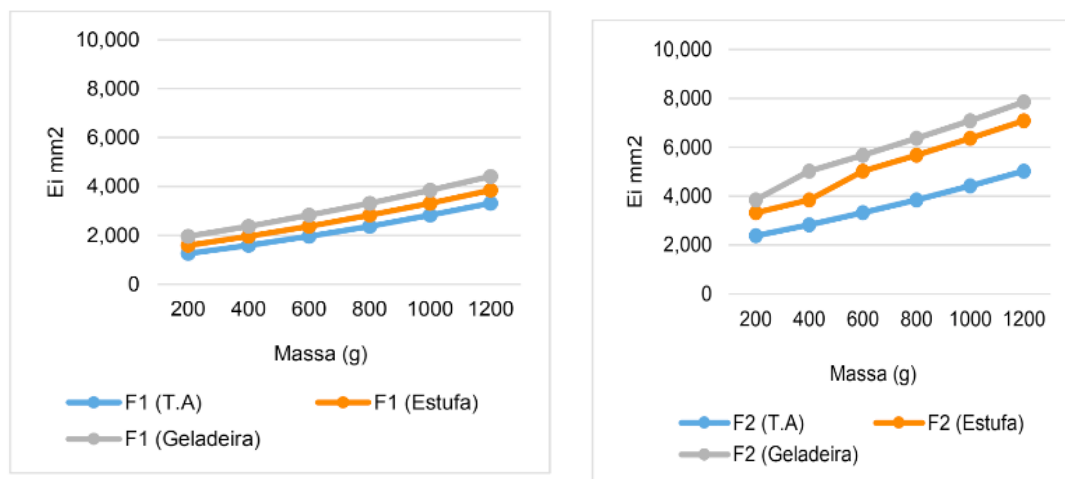


Figura 1 – Espalhabilidade das amostras F1 e F2 em função do peso adicionado (g). Formulações acondicionadas em diferentes condições durante 28 dias. (Fonte: Dados da Pesquisa).

A espalhabilidade, definida como a expansão de uma formulação semissólida sobre uma superfície após um determinado período de tempo é uma das características essenciais dos produtos de aplicação tópica (BORGHETTI; KNORST, 2006).

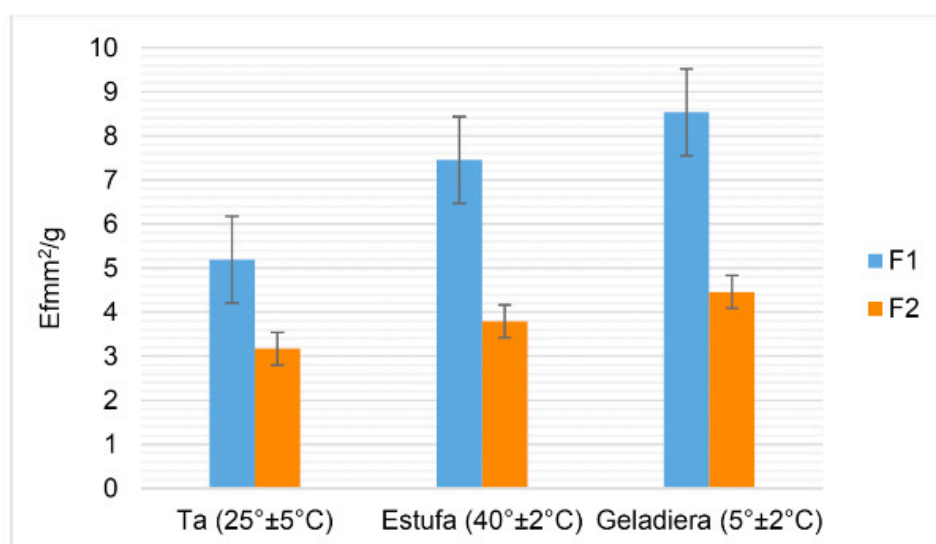


Figura 2 – Fator de espalhabilidade das amostras F1 e F2 em função do peso adicionado. Formulações acondicionadas em diferentes condições durante 28 dias. (Fonte: Dados da Pesquisa).

Os resultados revelam que houve uma relação linear entre o peso e a expansão como também o comportamento diferente entre as formulações F1 e F2 (Figura 1). Nesse sentido pode-se inferir que os componentes utilizados na elaboração das amostras F1 e

F2, bem como as condições de armazenamento podem ter repercutido nos resultados do fator de espalhabilidade ao longo dos 28 dias de estudo (Figura 2).

## 4 | CONCLUSÃO

A acne vulgar é uma das afecções cutâneas mais frequentes na população mundial com importantes repercussões psicossociais. Dermocosméticos podem colaborar com o tratamento coadjuvante à terapia medicamentosa principalmente nos casos de acne leve a moderada. A atividade terapêutica dos óleos essenciais de melaleuca e cravo-da-índia tem sido amplamente discutida nos estudos científicos, no entanto, verifica-se a carência de dados sobre o comportamento desses ativos em formulações auto-emulsionantes funcionais de cristal líquido. Neste estudo, de acordo com as condições experimentais utilizadas, foi possível formular dermocosméticos empregando-se os óleos essenciais de melaleuca e cravo-da-índia como potenciais ativos no tratamento da acne. Os testes realizados comprovaram a qualidade físico-química e microbiológica do produto, bem como, a boa aceitabilidade sensorial após o uso, porém, foi possível observar a resistência dos julgadores em adequar ao novo, novas propostas, não obtendo resultado de eliminação, mas sim como notificação. Embora estudos mais detalhados devam ser conduzidos no aprimoramento da formulação, é importante considerar que os óleos essenciais demonstraram grande potencialidade no emprego em dermocosméticos.

## REFERÊNCIAS

- AFFONSO, Raphael S. et al. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.
- AMARI, Sergio; THIBODEAU, Alain. **Use of transesterified olive oil in the cosmetic field**. U.S. Patent n. 8,796, 217, 5 ago. 2014.
- ATTWOOD, D.; FLORENCE, A.T.; ROTHSCHILD, Z.. **Princípios Físico-Químicos em Farmácia Vol. 4**. Edusp, 2003.
- AYOOLA, G. A. et al. Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* (clove). **Afr J Microbiol Res**, v. 2, n. 7, p. 162-166, 2008.
- BHATE, K.; WILLIAMS, H. C. Epidemiology of acne vulgaris. **British Journal of Dermatology**, v. 168, n. 3, p. 474-485, 2013.
- BHATIA, Ajay et al. Propionibacterium acnes and chronic diseases. In: **The Infectious Etiology of Chronic Diseases: Defining the Relationship, Enhancing the Research, and Mitigating the Effects: Workshop Summary.**, Knobler, SL et al.(eds.). 2004. p. 74-80.
- BORGES, Caroline Dellinghausen; VENDRUSCOLO, Clarice Tondo. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 29, n. 2, p. 171-188, 2008.



BORGHETTI, Greice Stefani; KNORST, Miriam Teresinha. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares **Revista Brasileira de ciências farmacêuticas**, v. 42, n. 4, p. 531-537, 2006.

BRASIL, ECOCERT. Organismo de inspeção e certificação a serviço do homem e do meio ambiente no Brasil. 2005. **Elaborado por ECOCERT Brasil. Disponível em:** <<http://brazil.ecocert.com/politicas-e-diretrizes-ECOCERT>>.

BRASIL. Agência de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos** (series temáticas), v.1, Brasília: Anvisa, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa Esclarece: 2841 - **Cosmecêuticos, neurocosméticos, dermocosméticos e nutricosméticos**. 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos**. 2ª edição. Brasília: Anvisa, 2007. 120 p.

BRASIL. Resolução RDC N° 481, de 23 de setembro de 1998. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Diário Oficial da União, Brasília, D , set, 1998.

BRÜGGEMANN, Holger et al. The complete genome sequence of *Propionibacterium acnes*, a commensal of human skin. **Science**, v. 305, n. 5684, p. 671-673, 2004.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical microbiology reviews**, v. 19, n. 1, p. 50-62, 2006.

CASTRO, C.; JACOVINE, L.A.G.; SILVA, M.L. Análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Árvore**, p.214-243, 2005.

FERREIRA A.O., BRANDÃO M. **Guia Prático da Farmácia Magistral** 4a ed., São Paulo: Pharmabooks Editora, 2011.

FIGUEIREDO, A. et al. Avaliação e tratamento do doente com acne-Parte I: Epidemiologia, etiopatogenia, clínica, classificação, impacto psicossocial, mitos e realidades, diagnóstico diferencial e estudos complementares. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, v. 27, n. 1, p. 59-65, 2011.

GARCIA, C.C.; GERMANO, C.; OSTI, N.M.; CHORILLI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações de sabonete líquido íntimo acrescidas de óleo de *Melaleuca*. **Rev Bras Farm**, v. 90, n. 3, p. 236-240, 2009.

GRAHAM, G. M. et al. Proinflammatory cytokine production by human keratinocytes stimulated with *Propionibacterium acnes* and *P. acnes* GroEL. **British Journal of Dermatology**, v. 150, n. 3, p. 421-428, 2004.

HARRIS, M.I.N.C. **Pele: Do nascimento à maturidade**. São Paulo: Senac, 2018.

ISAAC, Vera Lúcia Barros et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 1, 2008.

LYRA, Luciana Pupo da Silveira. Desenvolvimento de nanoemulsão de geraniol e óleo essencial da palmarosa (*Cymbopogon martinii*) e sua ação inibitória sobre linhagens de *Cutibacterium acnes*. Botucatu, 2019. Disponível em: [https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/181641/lyra\\_ips\\_me\\_bot.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/181641/lyra_ips_me_bot.pdf?sequence=3&isAllowed=y). Acessado em: 13/06/2020.

MONTEIRO, E.O. Cosmecêuticos-Atualização. **Rev Bras Med**, v. 71, n. esp. g4, 2014.



MORESCO, H. H. **Estudo fitoquímico e biológico de quatro espécies da família myrtaceae**. Florianópolis, p.190, mar., 2014.

MOUSSAVOU, U.P. A.; DUTRA, V.C. **Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos**. Rede de Tecnologia e Inovação do Rio de Janeiro – REDETEC, 35p., 2012,

NAST, A. et al. European evidence-based (S3) guideline for the treatment of acne—update 2016—short version. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 30, n. 8, p. 1261-1268, 2016.

NETO, E.M. R. et al. Abordagem terapêutica da acne na clínica farmacêutica. **Boletim Informativo Geum**, v. 6, n. 3, p. 59, 2016.

NEVES, Juliane Rocio et al. Propionibacterium acnes e a resistência bacteriana. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 7, n. 3, p. 27-38, 2015.

PAWAR, V. C.; THAKER, V. S. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. **Mycoses**, v. 49, n. 4, p. 316-323, 2006.

PEREIRA, J.G.; COSTA, K.F.; SOBRINHO, H.M. R. Acne vulgar: associações terapêuticas estéticas e farmacológicas. **Revista Brasileira Militar de Ciências**, v. 5, n. 13, p.15-21, 2019.

RIBEIRO, J.C. **Cosmetologia Aplicada a Dermoestética**, 2a ed., São Paulo: Pharmabooks, 2010, 441p.

SILVA, A.M.F.; COSTA, F.P.; MOREIRA, M. Acne vulgar: diagnóstico e manejo pelo médico de família e comunidade. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 9, n. 30, p. 54-63, 2014.

SOUZA, G.S.; FERREIRA, A.J.; TESCAROLLO, I.L. Hidrogéis para incorporação de óleo de melaleuca em dermocosméticos para acne. In: TESCAROLLO, I.L. *Farmácia e promoção da saúde 1*. Ponta Grossa, PR: Atena Editora, p. 1-388–416, 2020.

SOUZA, V.M.; ANTUNES JUNIOR, D.A. **Ativos dermatológicos: Dermocosméticos e nutracêuticos**. São Paulo: Daniel Antunes Junior, 2016, 826p.

VAZ, Ana Lúcia. Acne vulgar: bases para o seu tratamento. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, v. 19, n. 6, p. 561-70, 2003.

## DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DE PIRULITO E GELEIA DE BIOTINA

Data de aceite: 05/06/2020

### **Bruna Aparecida dos Santos Marubayashi**

Unioeste – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

<http://lattes.cnpq.br/3964949683855364>

### **Bruna Carolina Saraiva dos Santos**

Unimar - Universidade de Marília

<http://lattes.cnpq.br/6657256274423708>

### **Nathália Larissa Cordeiro dos Santos**

Unimar - Universidade de Marília

### **Aline Cristina Membribes Garcia**

Unimar - Universidade de Marília

### **Juliana Agostinho Lopes Barbosa**

Unimar - Universidade de Marília

<http://lattes.cnpq.br/8025589210644242>

**RESUMO:** A Biotina é um nutriente essencial muito conhecido pelo seu potencial estético, pois ela contribui para a saúde da pele e do cabelo. No entanto, seu papel no organismo vai além da estética, sendo necessária em funções fisiológicas. A carência de Biotina pode ocorrer por diversas causas, como a deficiência de Biotinidase caracterizando uma doença metabólica hereditária, a administração prolongada de medicamentos anticonvulsivantes e antibióticos, consumo excessivo de álcool,

ingestão de ovo cru e indivíduos com síndrome do intestino curto levando à má absorção. Logo, a suplementação de Biotina na dieta pode ter motivação estética ou terapêutica, fazendo com que pacientes de idades distintas façam o uso dela, que atualmente se encontra disponível principalmente em formas sólidas como cápsulas e comprimidos. Esse trabalho visou desenvolver duas formas farmacêuticas para a incorporação da Biotina: a geleia e o pirulito, com intuito de aumentar a adesão ao tratamento de pacientes com dificuldades de deglutição além de verificar a estabilidade físico-química e análise microbiológica. Os resultados obtidos nos testes de controle de qualidade físico-químico e microbiológico foram satisfatórios, enquadrando-se dentro dos padrões.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biotina, Biotinidase, Geleia, Pirulito.

### DEVELOPMENT AND PHYSICAL AND CHEMICAL ANALYSIS OF LOLLIPOP AND JELLY BIOTIN

**ABSTRACT:** Biotin is an essential nutrient well known for its aesthetic potential as it contributes to skin and hair health. However, its role in the organism goes beyond the aesthetics, it also helps physiological functions. Biotin deficiency

can occur for a variety of reasons, including a biotinidase deficiency characterized by an inherited metabolic disease, prolonged administration of anticonvulsant drugs and antibiotics, excessive alcohol consumption, raw egg intake and drugs with short bowel syndrome leading to malabsorption. The Biotin supplementation in the diet may have aesthetic or therapeutic motivation, causing patients of different ages to make use of it, which is mainly available on solid forms, such as capsules and tablets. This work aimed to develop two pharmaceutical forms for the incorporation of Biotin: a jelly and a lollipop, with the purpose of increasing the adherence of patients with developmental difficulties besides verifying the physical-chemical stability and microbiological analysis. The results obtained in the physical-chemical and microbiological quality control tests were satisfactory, in accordance with the standards.

**KEYWORDS:** Biotin, Biotinidase, Jelly, Lollipop.

## 1 | INTRODUÇÃO

Vitaminas são substâncias vitais aos seres vivos, porém grande parte adquirimos de forma exógena, sendo classificadas em hidro e lipossolúveis. Uma das vitaminas hidrossolúveis de grande interesse é a Biotina, também conhecida por vitamina B7 e vitamina H. Ela está envolvida em reações de gliconeogênese, lipogênese, síntese de ácidos graxos, metabolismo do propionato e catabolismo da leucina, contribui para a saúde da pele e cabelo e há estudos sobre sua capacidade de agir contra hiperglicemia, aliviar dor muscular e depressão (GONÇALVES, 2010, p.18, apud FRANCO, 2004). Ela está presente em alimentos tanto de origem animal quanto vegetal como rins, gema de ovo, soja, castanha e outros cereais (DE ANGELIS, 2007, p.141).

Os seres humanos são incapazes de sintetizá-la, sendo assim há necessidade de obtenção a partir de fontes exógenas através da absorção intestinal. O intestino possui duas fontes de biotina: a partir da alimentação e a outra bacteriana, que é a microbiota normal do intestino grosso. A biodisponibilidade da biotina nos alimentos varia de 5% a 100% (SAID, 2008).

A deficiência de biotina pode ocorrer por diversos fatores, entre eles: alimentação pobre em vitaminas e nutrientes, indivíduos tratados com medicamentos anticonvulsivantes, indivíduos com síndrome do intestino curto, pacientes submetidos à nutrição parenteral por longos períodos, uso prolongado de antibióticos, consumo excessivo de álcool e de ovo cru (ZEMPLI et al., 2008), e também devido à deficiência de biotinidase, uma doença metabólica hereditária na qual um defeito no metabolismo da biotina gera a incapacidade do organismo fazer a sua reciclagem ou usar a biotina ligada à proteína fornecida pela dieta (PINDOLIA et al., 2010). A sintomatologia da forma clássica da doença é geralmente neurológica e cutânea, mas a partir da suplementação precoce, isso pode ser diminuído e não há desenvolvimento de sequelas. O tratamento consiste na reposição oral de biotina, 5 a 20 mg/dia, por toda a vida. A prevalência combinada da doença é variável, de 1:60.000

a 1:9.000. A deficiência de biotinidase preenche critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) para triagem neonatal, devido à alta morbidade e tratamento efetivo e de baixo custo (LARA et al., 2012).

A Biotina também tem sido vista como a vitamina para a beleza e é comercializada para melhorar o aspecto das unhas, pele e do cabelo, pois contribui para o metabolismo de proteínas, ácidos graxos e carboidratos (COSTA et al., 2007).

Dessa forma a suplementação pode ocorrer por fins patológicos e estéticos. As formas farmacêuticas de maior veiculação são as sólidas (comprimidos e cápsulas) e líquida (xarope), porém há outras possibilidades que visam auxiliar a adesão ao tratamento, principalmente de crianças e idosos. Um exemplo é a veiculação do fármaco em doces dietéticos, pois ao dissolver na boca ocorre absorção através da mucosa oral e sublingual, diminuindo o efeito da primeira passagem hepática do medicamento, em consequência menores efeitos secundários e maior absorção do mesmo e também ao ser deglutido pode ser absorvido pelo trato gastrointestinal (FERREIRA, 2010).

O presente projeto teve como objetivo desenvolver duas formas farmacêuticas, verificar estabilidade físico-química e microbiológica, além da viabilidade de produção das mesmas.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Formulações e Técnica de Preparo do Pirulito e da Geleia

A elaboração das formulações se deu por meio de estudos teóricos, pesquisas bibliográficas, e testes práticos, até a obtenção dos resultados desejados, dados apresentados nas Tabelas 1 e 2. Os princípios ativos utilizados foram obtidos na Universidade de Marília (Unimar) e o princípio ativo Biotina na farmácia de manipulação A Exclusiva, situada na cidade de Marília-SP.

Foi produzida apenas uma amostra de cada forma farmacêutica com adição de Biotina (5mg) com a finalidade de realização do controle de qualidade.

A técnica de preparo do pirulito consistiu em adicionar em um béquer todos os componentes previamente pesados e aquecer até fusão total, adicionando em seguida o corante e o flavorizante. A mistura foi colocada em formas de plástico, previamente revestidas com óleo fixo vegetal e levados para refrigeração

A geleia foi elaborada seguindo as especificações regulamentadoras de alimentos, e incorporando técnicas farmacêuticas de manipulação de diluição geométrica do princípio ativo. Para o preparo, foram adicionados em um béquer a água, sucralose, acessulfame K, ácido cítrico, benzoato de sódio, goma xantana, pectina e morangos anteriormente triturados com o auxílio de um mixer.

Componentes	1º (%)	2º (%)	3º (%)	4º (%)	5º (%)
Sorbitol	89,77	80,03	80,03	-	10
PEG 4000	-	-	19,77	19,77	-
Ácido cítrico	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5
Benzoato de Sódio	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Xilitol	10	5	-	-	8
Isomaltulose	-	14,65	-	80,03	-
Colageno Hidrolisado	-	-	-	-	10
Gelatina	-	-	-	-	10
Glicerina	-	-	-	-	10
Água purificada	-	-	-	-	qsp
Aroma de Morango	qs	qs	qs	qs	2
Corante Vermelho	qs	qs	qs	qs	0,2

Tabela 1. Formulação utilizada para obtenção do pirulito em cada um dos cinco testes.

Componentes	1º (%)	2º (%)	3º (%)
Carboximetilcelulose	1,5	2	-
Sucralose	0,15	0,15	0,15
Acessulfame K	0,15	0,15	0,15
Água Destilada	qsp	qsp	qsp
Sorbitol 70%	10	10	10
Pectina	-	0,5	2
Goma Xantana	-	-	1
Morango Fruta	-	-	40
Ac cítrico	-	-	0,2

Tabela 2. Formulação utilizada para obtenção da geleia em cada um dos três testes.

### 3 I CONTROLE DE QUALIDADE

De acordo com o Formulário nacional da farmacopeia brasileira 2.ed de 2012 o controle de qualidade pode ser definido como “Conjunto de operações (planejamento, coordenação e execução) com finalidade de verificar a conformidade dos atributos ou características do produto acabado ou em processo, matérias-primas e outros materiais, com especificações pré-estabelecidas”

Constitui em uma ferramenta importante para assegurar a eficácia e a segurança do medicamento manipulado, contribuindo na conquista da credibilidade e solidez da instituição Farmácia Magistral.

#### 3.1 Características Organolépticas

Características organolépticas têm relação com a integridade e qualidade de matéria-prima, mas não conseguem ser utilizadas com fins analíticos, pois são consideradas relativas (FERREIRA, 2010). Normalmente são descritas quatro características organolépticas: aparência, cor, odor e sabor fazendo-se uma comparação visual e tátil com a bibliografia analítica adotada e com um padrão.

Para formas farmacêuticas (produtos acabados) observa-se o aspecto como tamanho, integridade consistência (no caso do pirulito) e se aparenta ser liso ou áspero, opaco ou transparente e brilhante (no caso da geleia). Observa-se também a cor, o odor e o tato.

### 3.2 Peso Médio

O peso médio é a média aritmética do peso de vinte unidades, em gramas. Os limites de variação tolerados para o Peso médio serão  $\pm 7,5\%$ .

Segundo Ferreira (2010, p.259) os pirulitos devem ter peso variável entre 7 a 8 gramas, porém foi encontrada dificuldade na disponibilidade de moldes com tamanho compatível, dessa forma foram obtidos pirulitos de 7 a 15 gramas.

### 3.3 Viscosidade

A viscosidade é a medida da resistência para fluir. Foi determinada por um viscosímetro de Brookfield, que mede a viscosidade pela força necessária para girar o spindle no líquido que está sendo testado (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 5 edição, p. 89).

### 3.4 Umidade

A análise de umidade está relacionada com a estabilidade, qualidade e a composição de alimentos. Um exemplo é a rapidez na oxidação de frutas caso a embalagem não apresente vedação correta (CECCHI, 2003, p. 36). Para o setor farmacêutico o conteúdo de água prejudica a efetividade da preparação medicinal sendo que princípio ativo pode degradar e não alcançar seu efeito máximo e há influência diretamente nas condições de armazenamento (FERREIRA, 2011, vol. 2, p.149).

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico, no qual se avalia a perda de massa da amostra por dessecação até peso constante (FERREIRA, 2013).

### 3.5 Determinação Potenciométrica do pH

O valor de pH é definido como a medida da atividade do íon hidrogênio de uma solução. O pHmetro é um aparelho indispensável na farmácia em todos os processos do controle de qualidade, sendo utilizado na identificação das matérias-primas e no ajuste das preparações farmacêuticas (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 5 edição, p. 121).

### 3.6 Sólidos Totais ou Índice de refração (Brix°)

Avaliou-se por meio de refratômetro que é um método utilizado para medir sólidos solúveis como: açúcares. A escala Brix é calibrada pelo número de gramas de açúcar contidos em 100 g de solução. Os sólidos solúveis contidos na amostra representam o total de sólidos dissolvidos na água, como o açúcar, sais, proteínas, ácidos, entre outros (PERRONI, 2011).

### 3.7 Açúcar Redutor

Foi utilizado método de titulação. Diluiu-se 2g de amostra de pirulito e de geleia em um balão volumétrico de 100 ml com água destilada. Em um erlenmeyer colocamos 10 ml de solução Fehling A (sulfato de cobre), 10 ml de solução Fehling B (tartarato de potássio e hidróxido de sódio) e 40 ml de água destilada. Realizamos a titulação dessas soluções sobre aquecimento e constante agitação com o indicador azul de metileno. O ponto de viragem se deu com a presença da coloração vermelho tijolo (FERREIRA, 2013).

### 3.8 Análise Microbiológica

Por tratar-se de dois produtos alimentícios, devemos considerar como padrão para a qualidade microbiológica dos mesmos a RDC nº 12, de 12 de Janeiro de 2001, que estabelece ensaios para a quantificação de bolores e leveduras/g no caso da geleia (com tolerância máxima de  $10^4$  UFC) e coliformes a  $45^\circ\text{C/g}$  para o pirulito (tolerância máxima de 10 UFC).

Em 99 ml de solução fisiológica estéril, foi diluído 1g da amostra e em seguida colocado sob agitação. Após esse período, uma alíquota de 1,0 mL da amostra foi retirada e transferida para as placas de Petri contendo: Agar Nutriente, Sabouraud, ágar MC (MacConkey). Passado alguns minutos e com o ágar sólido, as placas foram colocadas dentro da estufa por um período de 48 horas. Agar Sabouraud permaneceu por 60 horas devido a crescimento mais demorado de leveduras e bolores.

### 3.9 Identificação de biotina

O componente de maior ênfase nesse projeto é o fármaco biotina, utilizamos como base para nossas análises físico-químicas as informações presentes nas Farmacopéias Brasileira, Européia e Americana.

Para identificação utilizamos a reação colorimétrica com água de brometo (European Pharmacopoeia, 2008 v.2, p.1308, 6ª Ed).

### 3.10 Estimativa de Prazo de Validade

O procedimento para determinação do prazo de validade deve seguir critérios racionais e científicos e cabe ao profissional farmacêutico determinar o prazo de validade, baseando-se na avaliação físico-química dos princípios ativos, a composição do excipiente ou veículo e a forma farmacêutica empregada. Alguns critérios são: Estabilidade dos componentes, uso de conservantes e estabilizantes, forma farmacêutica, embalagem, temperatura de armazenamento e validade dos componentes (FERREIRA, 2011).

### 3.11 Embalagem e Acondicionamento

A embalagem de um produto magistral tem como principal função a proteção do



medicamento em questão ao que tange fatores ambientais (contaminação, umidade, oxigênio e luz solar) e fatores físicos (choque, impacto, compressão e perfuração), evitando que a qualidade ou integridade do produto seja comprometida. A escolha da embalagem deve ser feita baseando-se nas características da mesma e do produto a ser acondicionado, analisando compatibilidade do medicamento com o material constituinte da embalagem, conveniência, funcionalidade e custos (FERREIRA, 2011).

#### 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com Ferreira, 2011, uma formulação vitamínica estável deve ser cuidadosamente formulada levando em consideração as características físico-químicas, pH de maior estabilidade, termolabilidade, e as interações possíveis com os demais constituintes. A vitamina H ou Biotina apresenta estabilidade em meio ácido e neutro, sendo assim tanto na geleia como no pirulito foi utilizado acidulante não só para palatidade como para estabilização da formulação e mantivemos o pH 4 em ambas, não é termolábil o que facilitou os procedimentos farmacotécnicos utilizados, a sensibilidade a oxigênio e luz são baixas tornando-a pouco oxidável e possui incompatibilidade com álcalis e sais alcalinos.

Durante o primeiro teste de formulação do pirulito não houve solidificação dos produtos, que apresentaram cor e sabor agradáveis. Na segunda fórmula houve solidificação, porém, o produto se liquefez após cinco horas à temperatura ambiente. Na terceira, os pirulitos solidificaram normalmente, permanecendo assim em temperatura ambiente, porém após uma semana houve aparecimento de rachaduras nos mesmos. Na quarta formulação houve solidificação parcial e após dois dias eles se tornaram esbranquiçados. Na quinta e última formulação desenvolvemos um pirulito mole (goma) o qual houve maior facilidade de manipulação, solidificação e permanência da mesma em temperatura ambiente, cor, sabor, odor e aparência característica e agradável.

A primeira formulação da geleia, a viscosidade convencional das mesmas não foi atingida. Na segunda, obtivemos a viscosidade desejada. A terceira foi realizada devido a uma incompatibilidade encontrada entre o ativo CMC e a pectina, no qual a associação pode gerar uma coacervação, isto é divisão de fases. Sendo assim foram escolhidas a goma xantana como substituta do CMC e a pectina em concentração máxima permitida pela Anvisa em geleias que é 2% (CNNPA nº 12, de 1978). A mesma resolução determina a ausência de corantes e flavorizantes em geleias, dessa forma foi desenvolvida uma formulação compatível com normas alimentares e farmacêuticas. Para aumentar a atratividade adicionamos a fruta fresca (morango).

O valor de peso médio é o precursor dos cálculos que completam o controle de qualidade. Peso médio foi definido pela média aritmética do peso de 20 pirulitos. O valor obtido é um parâmetro importante para a verificação da homogeneidade e

reprodutibilidade da formulação. Cálculo define o peso máximo e mínimo, garantindo assim uma homogeneidade da mesma.

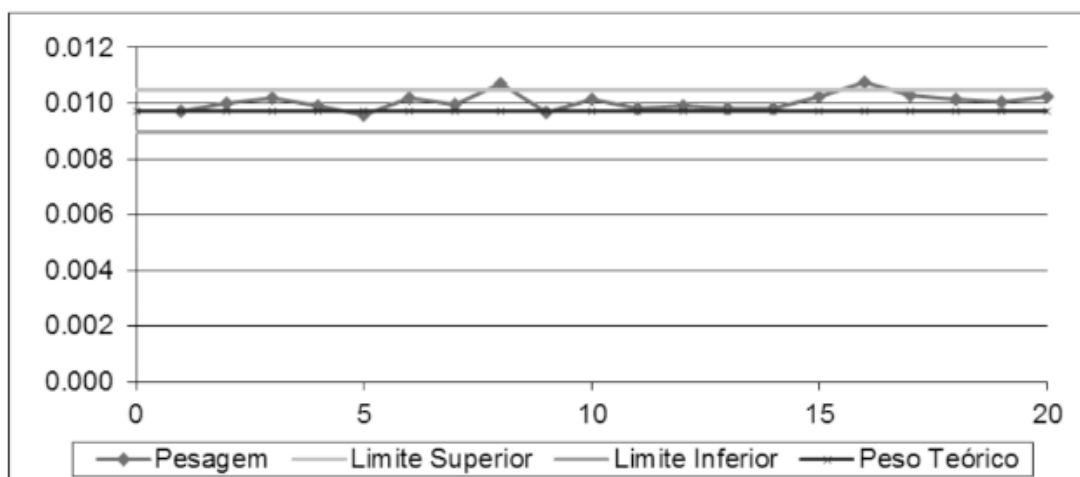


Gráfico 1. valores das amostras pesadas e as variações de limites superior e inferior.

A partir do peso médio é possível calcular o limite de variação da formulação e desvio padrão, conforme demonstrado na tabela abaixo.

<b>Resultados Obtidos</b>	
<b>Somatória:</b>	207,160 g
<b>Máximo:</b>	11,030 g
<b>Mínimo:</b>	9,890 g
<b>Desvio Padrão:</b>	0,305814 g
<b>Coef. de Variação:</b>	2,952441
<b>Valor Teórico:</b>	10,000 g
<b>Média:</b>	10,35800 g

Tabela 3. Resultados do peso médio, desvio padrão e coeficiente de variação das amostras

Esse cálculo define o peso máximo e mínimo, garantindo assim uma homogeneidade da mesma. Desvio padrão que pode ser definido como a distância que os valores reais dos pesos dos pirulitos se distanciam do peso médio, seja para mais ou para menos. E o coeficiente de variação expressa, em porcentagem, a estimativa do desvio padrão, não devendo ultrapassar 4% (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

O resultado do peso médio por mais uniforme que ele esteja não é garantido, por isso, de que todas possuem a mesma concentração de fármaco, pois esse parâmetro é só um indicativo. Para tanto, existem testes de equivalência que definem quantidade de

fármaco por unidade com precisão. Os valores de desvio padrão e coeficiente de variação determinam a viabilidade e reprodutibilidade das formulações e obtiveram resultados positivos. Obtiveram-se dois pontos fora no limiar superior de peso o que é permitido de acordo com a farmacopeia brasileira.

A temperatura é um dos fatores que afeta a viscosidade dos doces. Um aumento da temperatura neste caso faz com que a viscosidade da fase líquida diminua, aumentando o movimento das partículas em suspensão, causando um decréscimo na viscosidade dos doces (MACHADO, 2012 apud PELEGRINE, 1999).

Todos os trabalhos analisados sobre determinação reológica de doces produzidos com frutas demonstram tratar-se de um fluido não-newtoniano do tipo pseudoplástico, devido em repouso apresentarem suas moléculas desordenadas e quando submetidas a uma tensão de cisalhamento, elas tendem a se orientar na direção da força aplicada. O teste de viscosidade foi realizado com o spindle S54 na rotação de 12 RPM, por se tratar de controle de qualidade, na temperatura de 25°C e o obtivemos o resultado de  $cP5850$  ou  $58,5g/(cm.s)$ .

A análise da umidade foi realizada em triplicada, fez-se a média e foi determinada pela comparação da amostra inicial (100%) com a amostra final pós permanência em estufa. De acordo com a Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos - CNNPA nº 12, de 1978 a umidade das geleias não pode ultrapassar 38% e no caso dos pirulitos não há informações para este parâmetro.

Obteve-se umidade de 85,05% na geleia que a torna fora dos padrões, porém a resolução leva em consideração a presença de 50% de açúcar na formulação, logo a presença de edulcorantes como sorbitol, que possui a função umectante, leva um aumento do teor de água e em consequência aumento da umidade. O pirulito obteve 41,92% de umidade, devido ser produzido em base de goma apresentar água em sua composição.

Segundo Ferreira, 2013 “É esperado que a geleia diet tenha menor teor de sólidos solúveis uma vez que grandes quantidades de açúcar são substituídas por pequenas quantidades de edulcorantes”. O valor obtido pelo Brixº foi 14,2% comprovando a teoria da menor quantidade de sólidos solúveis na amostra de geleia diet e se enquadra abaixo dos valores determinados pré-estabelecidos de 62 a 65% (CNNPA nº 12, de 1978).

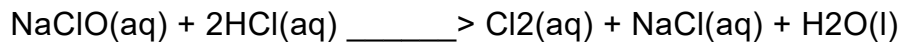
Os açúcares redutores reagem com os íons cúpricos da solução de Fehling, reduzindo-se a íons cuprosos, sob a ação do calor em meio alcalino. Ao reagir com os íons cúpricos, os açúcares sofrem oxidação, enquanto que o cobre é reduzido, formando-se um precipitado vermelho de óxido cuproso.

A geleia diet e o pirulito têm teores de açúcares totais baixo por se tratar de uma formulação sem adição de sacarose propriamente dita. Mesmo que em alguns edulcorantes sejam polímeros da sacarose (sucralose), não é possível detectá-los nesse tipo de titulação, sendo assim o açúcar presente na análise da geleia se refere ao presente na fruta, no caso 0,14% (FERREIRA, 2013).

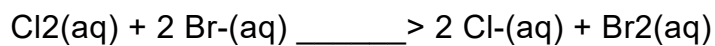
Em relação às análises microbiológicas, não houve crescimento nas placas de todos os meios de cultura utilizados, demonstrando a estabilidade da formulação (mesmo possuindo água na mesma), eficácia dos conservantes, higiene durante o preparo e conservação adequada.

A identificação da biotina é preconizada pela produção da água de bromo que possui as seguintes reações:

A reação do ácido clorídrico, HCl, com o hipoclorito de sódio, NaClO, produz cloro, Cl<sub>2</sub>, através da reação:



O Cl<sub>2</sub> formado irá oxidar o íon brometo do brometo de potássio, KBr, formando o bromo, Br<sub>2</sub>.



A reação global que representa todo o processo é:



Ao realizar o experimento com a água de bromo percebe-se que a solução muda de cor, passando de incolor à laranja. Essa é uma evidência de que ocorreu a formação do bromo, Br<sub>2</sub>. A água de bromo ao entrar em contato com a solução de biotina 1:3, passa de laranja para incolor novamente demonstrando a desestabilização da segunda reação.

Existem estudos de estabilidades simples que podem ser empregados para determinar o prazo de validade, optamos pelo Método Q10 (Cálculo de previsão da estabilidade): e utilizada para calcular de forma rápida o prazo de validade de um produto que será armazenado ou usado sob condições diferentes das expressas no rótulo do fabricante. Foi verificado que quanto menor a temperatura maior o tempo de estabilidade das formulações, desta forma manter em geladeira seria uma alternativa para prolongar a vida útil do produto. A temperatura de validade é aquela que desestabiliza a formulação fisicamente, no caso do pirulito 5 horas em temperatura de 40°C se liquefez e a geleia perdeu umidade significativamente, se estiver em embalagem sem lacre. A partir desse dado obteve-se que nas temperaturas de 30°C e 20°C há duração respectivamente de 45 e 75 horas.

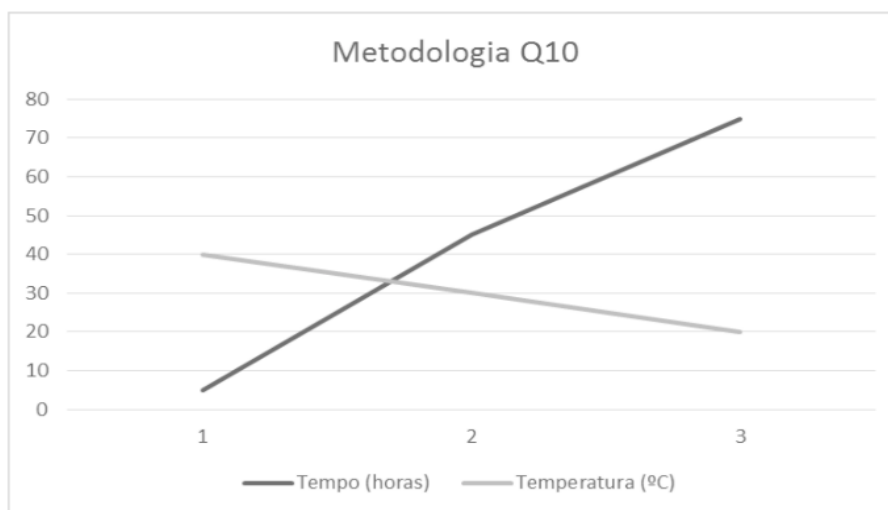


Gráfico 2. Demonstra a temperatura a que as amostras foram expostas e o tempo até ocorrer a liquefação.

Segundo FERREIRA (2011) tais formulações devem ter prazo de três a quatro meses.

O cálculo do Método Q10 é realizado a verificação da estabilidade da forma farmacêutica a determinadas temperaturas. A temperatura de validade é aquela que desestabiliza a formulação fisicamente, no caso do pirulito 5 horas em temperatura de 40°C se liquefez e a geleia perdeu umidade significativamente, se estiver em embalagem sem lacre. A partir desse dado é possível calcular a validade (em horas e dias) comparando temperaturas com o tempo de desestabilização inicial.

Os pirulitos foram acondicionados em sachês laminados de tamanho 70 x 220mm (um em cada), que recobrem o produto todo (incluindo o cabo), termicamente selados. A geleia foi acondicionada em sachês laminados de 70 x 70mm, contendo dez gramas da amostra em cada um, selados termicamente. Ao colocar a geleia em sachês laminados há a vantagem de proporcionar mais praticidade a formulação, uma vez que cada envelope conterá a dose certa de biotina necessária para a administração. Todos os produtos foram rotulados de acordo com as normas da RDC nº 41 de 22 de dezembro de 2009, contendo as seguintes informações: identificação do produto final, quantidade, método de administração, data de fabricação e prazo de validade.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho demonstrou o desenvolvimento e as análises físico químicas de duas formas farmacêuticas não usuais, geleia e pirulito. Evidenciou também que uma mesma droga pode ser administrada em diferentes formas farmacêuticas, sempre respeitando suas características, mas dessa forma demonstrando que é possível atender as necessidades de cada paciente.

Os resultados obtidos nos testes de controle de qualidade foram satisfatórios,

revelando valores de pH que se enquadram na faixa ideal, características organolépticas agradáveis e aceitáveis (sabor), além do peso médio dos pirulitos apresentarem resultados dentro dos padrões. É possível afirmar, portanto, que os resultados obtidos nos testes verificaram a estabilidade física e química das formulações e viabilidade para a implantação e possível comercialização pelas farmácias de manipulação.

## REFERÊNCIAS

- ARANTES, R. R. *et al.* Deficiência de biotinidase: da triagem neonatal à confirmação diagnóstica e ao tratamento. Disponível em: <[www.rmmg.org/exportar-pdf/1988/v26s6a08.pdf](http://www.rmmg.org/exportar-pdf/1988/v26s6a08.pdf)>. Acesso em março de 2017.
- AZEVEDO, F. L. A. A., *et al.* Avaliação sensorial de pão de forma elaborado com soro de leite em pó. Disponível em: Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.13, n.1, p.37-47, 2011.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres – Açúcares Redutores. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes%20e%20metodos/arquivos-metodos-da-area-bev-iqa/met-beb-001\\_001-analises-fisico-quimicas-de-bebidas-e-vinagres.pdf/@@download/file/MET%20BEB%20001\\_001%20Analises%20F%C3%ADsico%20qu%C3%ADmicas%20de%20Bebidas%20e%20Vinagres.pdf](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes%20e%20metodos/arquivos-metodos-da-area-bev-iqa/met-beb-001_001-analises-fisico-quimicas-de-bebidas-e-vinagres.pdf/@@download/file/MET%20BEB%20001_001%20Analises%20F%C3%ADsico%20qu%C3%ADmicas%20de%20Bebidas%20e%20Vinagres.pdf)> Acesso em julho de 2017.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 12, de 02 de janeiro de 2001.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 41 de 22 de dezembro de 2009.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos nº 12, de março de 1978.
- Brasil. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Deficiência de Biotinidase. Disponível em: <[http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2017/Recomendacao/Relatorio\\_PCDT\\_Deficienci\\_de\\_biotinidase\\_\\_para\\_Secretario\\_2017.pd](http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2017/Recomendacao/Relatorio_PCDT_Deficienci_de_biotinidase__para_Secretario_2017.pd)>. Acesso em fevereiro de 2017.
- BUCCINI, D. Obtendo água de bromo. Disponível em: <[www.pontociencia.org.br/experimentos/visualizar/obtendo-agua-de-bromo/953](http://www.pontociencia.org.br/experimentos/visualizar/obtendo-agua-de-bromo/953)>. Acesso em outubro de 2017.
- CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos 2ed. São Paulo: Editora Unicamp, 2003.
- FARMACOPÉIA EUROPEIA. Disponível em: <<http://www.newdruginfo.com/pharmacopeia/bp2003/British%20Pharmacopoeia%20Volume%20I%20and%20II/Monographs%20Medicinal%20and%20Pharmaceutical%20substances/B/Biotin.htm>>. Acesso em: junho de 2017.
- FERREIRA, A. O. *et al.* Guia Prático da Farmácia Magistral. 4a edição. Juiz de Fora: Pharmabook, 2010, Volumes 1 e 2.
- FERREIRA, C. Z. Composição de geleias de morango preparadas com açúcar, sucos de frutas ou edulcorantes. Disponível em: <[http://bdm.unb.br/bitstream/10483/7898/1/2013\\_CatherineZilaFerreira.pdf](http://bdm.unb.br/bitstream/10483/7898/1/2013_CatherineZilaFerreira.pdf)>. Acesso em novembro de 2017.
- GOMES, P. *et al.* Cosmecêuticos nos tratamentos de alopecia androgenética e eflúvio telógeno. Disponível em: <<http://tcconline.utp.br/media/tcc/2017/05/COSMECEUTICOS-NOS-TRATAMENTOS-DE-ALOPECIA->

ANDROGENETICA-E-EFLUVIO-TELOGENO.pdf>. Acesso em junho de 2017.

GONÇALVES, G. S. Atributos da validação do método analítico para quantificação da Biotina empregando a técnica potenciométrica. Disponível em: <[http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/86497/goncalves\\_gs\\_me\\_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/86497/goncalves_gs_me_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Acesso em dezembro de 2016.

HOPPE, C. D. Determinação de umidade em balas duras e balas mastigáveis. Disponível em: <[www.univates.br/revistas/index.php/destaques/article/viewFile/511/503](http://www.univates.br/revistas/index.php/destaques/article/viewFile/511/503)>. Acesso em outubro de 2017.

LARA, M. T., *et al.* Deficiência de biotinidase: aspectos clínicos, diagnósticos e triagem neonatal. Disponível em: <<http://www.rmmg.org/artigo/detalhes/1660>>. Acesso em março de 2017.

MACHADO, C. D. Análise reológica de doce de manga enriquecido com resíduos provenientes do processamento da polpa. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/110131/000951724.pdf?sequence=1>>. Acesso em outubro de 2017.

MELO E. A. *et al.* Formulação e avaliação físico-química e sensorial de geléia mista de pitanga (*Eugenia Uniflora* L.) e acerola (*Malpighia* Sp). Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/13799/9404>>. Acesso em setembro de 2017.

MONTENEGRO C. M., *et al.* Avaliação de formulações tópicas magistrais para o tratamento da acne. Disponível em: <[http://serv-bib.fcfa.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/viewArticle/1867](http://serv-bib.fcfa.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewArticle/1867)>. Acesso em outubro de 2017.

PERRONI, I. T. *et al.* Doce de leite – aspectos tecnológicos. Juíz de Fora: Editora Do Autor, 2011.

PINDOLIA K., *et al.* Analysis of mutations causing biotinidase deficiency. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/humu.21303/epdf>>. Acesso em janeiro de 2017.

SAID, H. J. Cell and molecular aspects of human intestinal biotin absorption. Disponível em: <<http://jn.nutrition.org/content/139/1/158.full>>. Acesso em maio de 2017.

SILVA, L. M. M. Estudo do comportamento reológico da polpa e da geleia de umbu (*Spondias tuberosa* Arr.). Disponível em: <[www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev174/Art1742.pdf](http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev174/Art1742.pdf)>. Acesso em julho de 2017.

SORA, G. T. S. *et al.* Caracterização reológica de geleia diet de pimenta *Capsicum Baccatum*, Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/277220534\\_Caracterizacao\\_reologica\\_de\\_geleia\\_diet\\_de\\_pimenta\\_Capsicum\\_Baccatum](https://www.researchgate.net/publication/277220534_Caracterizacao_reologica_de_geleia_diet_de_pimenta_Capsicum_Baccatum)>. Acesso em junho de 2017.

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. Disponível em: <<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/70/76>>. Acesso em fevereiro de 2017.

ZEMPLINI J., *et al.* Biotin and biotinidase deficiency. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2726758/pdf/nihms87517.pdf>>. Acesso em janeiro de 2017.



## DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE GEL FITOCOSMÉTICO CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO (*OCIMUM BASILICUM* L.)

Data de aceite: 05/06/2020

Data de submissão: 15/05/2020

### Flavia Scigliano Dabbur

Curso de Farmácia – Centro Universitário Cesmac  
– Maceió - Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/4139616797573659>

### Elinaldo Marcelino dos Santos Júnior

Curso de Farmácia – Centro Universitário Cesmac  
– Maceió - Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/0938813603387935>

### Rewerton Nayan de Oliveira Silva

Curso de Farmácia – Centro Universitário Cesmac  
– Maceió – Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/2555400326119643>

### Josefa Renalva de Macêdo Costa

Curso de Farmácia – Centro Universitário Cesmac  
– Maceió - Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/6452769875859861>

**RESUMO:** Fitocosmética é um segmento da ciência que se dedica ao estudo da ação e da aplicação de princípios ativos de origem vegetal com finalidade de higiene e estética. O óleo essencial de manjericão (*Ocimum basilicum* L.) tem destaque na literatura por diversas ações dentre elas a ação antimicrobiana frente a micro-organismos Gram-positivos e negativos. Como

o óleo essencial puro não pode ser aplicado diretamente na pele o objetivo da pesquisa foi formular e avaliar fisicoquimicamente, bem como a atividade antibacteriana de um gel, contendo óleo essencial de manjericão. Dois óleos essenciais (OE) foram adquiridos de diferentes fabricantes, nomeados BE e PY. Eles foram incorporados em uma base gel aniônica nas concentrações de 0,2% para BE e de 0,5% para PY. Realizado o teste de pré-estabilidade em 21 dias e todas as amostras foram aprovadas. Na avaliação antibacteriana frente ao micro-organismo *Staphylococcus aureus*, todas as amostras mantiveram suas características estáveis em todas as condições do estudo. Pode-se constatar atividade antibacteriana frente ao micro-organismo *Staphylococcus aureus* de todas as amostras, sendo o OE puro BE com maior atividade inibitória frente ao micro-organismo do que o fabricante PY e o gel contendo OE BE 0,5 % apresentou um percentual maior de inibição.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Ocimum basilicum*. Géis. Óleos essenciais. Cosméticos.

## DEVELOPMENT AND PHYSICAL CHEMICAL ASSESSMENT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PHYTOCOSMETIC GEL CONTAINING ESSENTIAL BASIL OIL (*OCIMUM BASILICUM* L.)

**ABSTRACT:** Phytocosmetics is a science segment dedicated to study the action and application of an active ingredients from the plants, for the hygiene and aesthetics purpose. The basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) is highlighted in the literature for several actions, among them the antimicrobial action against Gram-positive and negative microorganisms. As the pure essential oil cannot be applied directly to the skin, the objective of the research was to formulate and evaluate physicochemically, as well as the antibacterial activity of a gel, containing basil essential oil. Two essential oils (OE) were purchased from different manufacturers, named BE and PY. They were incorporated into an anionic gel base at concentrations of 0.2% for BE and 0.5% for PY. The pre-stability test was performed in 21 days and all samples were approved. In the antibacterial evaluation against the *Staphylococcus aureus* microorganism, all samples maintained their stable characteristics in all study conditions. It can be seen antibacterial activity against the *Staphylococcus aureus* microorganism of all samples, with pure BE OE with greater inhibitory activity against the microorganism than the manufacturer PY and the gel containing 0.5% OE BE presented a percentage greater inhibition.

**KEYWORDS:** *Ocimum basilicum*, Gel. Essencial oil. Cosmetics.

### 1 | INTRODUÇÃO

Denominam-se como fitocosméticos, os cosméticos que contém em sua composição ingredientes como óleos, manteigas vegetais e extratos de plantas medicinais. O uso desses, possui grandes vantagens cientificamente comprovadas, e podem ser ainda de composição sustentável. Sua fórmula se dá pela presença de ativos naturais, tendo assim efeitos superiores quando comparados a produtos sintéticos (FIGUEIREDO; MARTINI; MICHELIN, 2014).

Entretanto, todo fitocosmético deve passar por todas as etapas de pesquisa: apresentação, criação e desenvolvimento, em conjunto com os testes de estabilidade que indicam o comportamento do produto, em diferentes condições ambientais e em determinado intervalo de tempo para garantir a atividade durante toda sua vida útil (BRASIL, 2012; FIGUEIREDO; MARTINI; MICHELIN, 2014).

Dal'Belo (2008) define a fitocosmética como sendo o segmento da ciência que se dedica ao estudo da ação e da aplicação de princípios ativos de origem vegetal com finalidade de higiene e estética. Leva em consideração o impacto ambiental gerado em sua produção e os custos inerentes ao processo podendo optar também por embalagens biodegradáveis, recicláveis ou retornáveis (WEISS; HAMAD; FRANÇA, 2011).

De acordo com Ansel e colaboradores (2007) os géis consistem em preparações

semissólidas e suspensões de pequenas partículas inorgânicas ou de grandes moléculas orgânicas, são transparentes ou translúcidos, sendo constituídas por um ou mais ingredientes em bases hidrofílicas ou hidrofóbicas. Apresentam baixo poder de penetração na pele, geralmente são destinados ao uso tópico.

Têm em sua composição: agente geleificante ou espessante, como por exemplo: gomas, ácido algínico e alginatos, derivados de celulose, dióxido de silício coloidal, carbômeros e outros copolímeros do ácido acrílico, silicato de alumínio de magnésio (veegum®), álcool polivinílico, povidona etc; veículo (água ou álcool); conservantes e estabilizantes; umectantes (FERREIRA, 2010, p. 318).

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é natural da Índia, passando pelo Oriente Médio e Europa. É subspontâneo em todo o Brasil. Entre as ervas aromáticas o manjeriço tem grande importância econômica no Brasil, devido ao consumo *in natura* e em processamento industrial. O manjeriço se adapta a condições subtropicais ou temperadas, tanto para quente e úmido, onde pode ser cultivado o ano inteiro. Um de seus metabólitos secundários são os óleos essenciais, que fazem parte da defesa dessas plantas aromáticas (CORAZZA, 2002; LAMEIRA, PINTO, 2008; SANTOS, 2017).

O óleo essencial é um princípio ativo natural advindo de plantas medicinais e aromáticas, e possui várias atividades importantes para o metabolismo dos vegetais, a proteção e a conservação da espécie em que se faz presente. Eles são encontrados nas mais diversas partes da planta como nas folhas, raízes, cascas e flores. É um produto concentrado, volátil, utilizado na fabricação de perfumes, cosméticos e medicamentos (GROSSMAN, 2005). É um extrato proveniente dos órgãos de planta aromática que posteriormente são destilados com arraste à vapor (BAUDOUX, 2018).

A literatura destaca o óleo essencial (OE) de manjeriço (*O. basilicum*) como um OE rico em vários metabólitos, sendo eles os flavonoides, terpenos e taninos, responsáveis pelas ações antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e adstringente (CORAZZA, 2002). Segundo Baudoux (2018) sua composição bioquímica é metil-éter-fenóis (80% a 85% - metilchavicol), álcoois terpênicos (5% a 10% - linalol) e óxidos terpênicos (2% a 3% - 1,8-cineol).

Se faz relevante avaliar o comportamento físico-químico e a atividade antibacteriana deste óleo essencial formulado em gel, uma vez que o óleo essencial puro não deve ser aplicado diretamente na pele.

Assim o objetivo do estudo foi desenvolver e avaliar a pré-estabilidade físico-química bem como a atividade antibacteriana do gel fitocosmético, contendo óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.).

## 2 | MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um estudo descritivo experimental de caráter quali-quantitativo. Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios do Centro Universitário Cesmac,

analisados no período de agosto a novembro de 2019.

As matérias-primas para formulação das amostras foram dois óleos essenciais (OE) de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) de dois fabricantes diferentes, nomeados BE e PY e incorporados em uma base gel aniônica, nas concentrações de 0,2 % e 0,5 % de cada OE (**Quadro 1**), sendo o gel base e os óleos essenciais “puros” também avaliados durante o processo.

	INCI name	Função na fórmula	Concentrações testadas (%)
Óleo essencial de Manjeriço ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) “Puro”	<i>Ocimum basilicum</i> L. Essencial Oil	Ativo	0,2 e 0,5
Gel base aniônico (Carbopol® 940)	Carbomer	Espessante/gelificante	qsp 100

Quadro 1. Descritivo dos ingredientes das formulações.

Legenda: q.s.p. = quantidade suficiente para completar a formulação

Fonte: Autores (2019).

## 2.1 Procedimentos

### 2.1.1 Preparo das formulações (amostras) a partir do gel base já pronto

A preparação foi adaptada de Ferreira (2010), sendo o gel dividido em 2 partes (uma para controle analítico e outra para incorporação dos OE). Incorporou-se o óleo essencial ao gel. Submeteram-se as amostras aos testes para avaliação dos parâmetros de qualidade.

### 2.1.2 Estudo de pré-estabilidade da formulação

Para a execução do teste de pré-estabilidade físico-química e microbiológica das amostras utilizou-se o protocolo descrito no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2004).

As amostras foram separadas e armazenadas em frascos plásticos de polietileno (PE) escuros para realização das análises físico-químicas nos tempos T0 (inicial) 24 horas depois do preparo da formulação e T21 dias.

As condições de armazenagem foram temperatura ambiente, de 25°C ± 2°C, temperatura elevada em estufa com circulação de ar à temperatura de 45°C ± 2°C e temperatura baixa em geladeira à temperatura de 5°C ± 2°C.

## 2.2 Testes físico-químicos

### 2.2.1 Características organolépticas

A análise de cor foi realizada visualmente sob condição de luz artificial (branca). O aspecto da amostra foi analisado a fim de avaliar as características macroscópicas. O odor da amostra foi avaliado diretamente através do olfato (BRASIL, 2008).

### 2.2.2. Densidade aparente

É a razão entre massa (g) e volume (mL). Foi calculada através da razão entre a massa da amostra (5 g) em relação ao volume ocupado na proveta graduada de 10 mL, por meio da equação  $dap = m(g)/v(mL)$  (BRASIL, 2008).

### 2.2.3 Determinação do pH

A medida de pH foi realizada em triplicata no potenciômetro digital utilizando-se amostras diluídas a 10% em água purificada (BRASIL, 2008)

### 2.2.4 Teste de espalhabilidade

A espalhabilidade, definida como a expansão de uma formulação semissólida sobre uma superfície após um determinado período (BORGHETTI; KNORST, 2006).

A metodologia sugerida por Borghetti e Knorst (2006) é: posicionar uma placa de vidro plana (suporte) em cima de um papel milimetrado. Pesar 0,5 g da amostra e colocá-la no centro da placa de vidro. Com outra placa de peso conhecido aproximadamente 50,0 g colocá-la sobre a placa suporte e após 1 minuto fazer a leitura em duas posições opostas. Calcular o diâmetro médio. Acrescentar mais duas placas de peso conhecido 50,0 g em intervalos de 1 minuto cada uma e repetir o processo anterior.

O cálculo da espalhabilidade foi realizado segundo fórmula abaixo para verificar o comportamento reológico da amostra (BORGHETTI; KNORST, 2006).

$$E_i = d^2 \cdot \pi \div 4$$

**Onde:**

**E<sub>i</sub>** = espalhabilidade da amostra para um determinado peso *i* (mm<sup>2</sup>)

**d<sup>2</sup>** = diâmetro médio

**π** = 13,14

### 2.2.5 Teste de centrifugação

Pesou-se 5,0 g de amostra e colocou-se na centrífuga com rotação de 3000 rpm

por 30 minutos, observou-se visualmente se houve separação de fases ou qualquer modificação no aspecto da amostra (BRASIL, 2008; CAMARGO JUNIOR 2006).

## 2.3 Análises sensoriais in vitro

### 2.3.1 Deslizamento

Deslizamento é a facilidade com que o produto desliza sobre a placa de silicone. A amostra foi aplicada sobre uma placa de silicone plana e escura uma quantidade padronizada (0,05 g). Os movimentos circulares foram contados até o produto não deslizar mais (ISAAC et al., 2008).

### 2.3.2 Pegajosidade ou Tack

A pegajosidade é a intensidade com que o dedo adere à pele/superfície após aplicação do produto. Na mesma placa de silicone que se realizou o deslizamento, tocou-se com a ponta dos dedos (com luvas) com movimentos de tira e põe e avaliou se a amostra estava pouco pegajosa, pegajosa ou muito pegajosa (ISAAC et al., 2008).

## 2.4 Avaliação da atividade antibacteriana

A avaliação da atividade antibacteriana das amostras foi realizada através do método de poço frente ao micro-organismo Gram-positivo *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

A metodologia seguiu os padrões da BrCAST, (2017). Para inoculação da amostra, foi utilizado meio de cultura Mueller-Hinton. Foi realizado um caldo bacteriano (0,5 na escala de MacFarland) do micro-organismo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 para realizar a semeadura na placa de Petri. Posteriormente foram feitos pocinhos no meio de cultura aonde as amostras foram colocadas. As análises foram realizadas em triplicata, e incubadas em estufa, por 18 horas a temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

As leituras das placas foram realizadas em função da medida do halo de inibição obtido em milímetros (mm), quando presente, comparando a formação do halo da amostra com a do antibiótico padrão (cloranfenicol). O percentual de inibição (I %) também foi calculado para cada amostra analisada através de relação direta entre o halo de inibição do antibiótico padrão e o halo da amostra testada.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 24 horas do preparo, foram avaliadas às características organolépticas, pH, densidade e centrifugação das amostras. Após essas análises, as amostras foram submetidas aos ensaios de pré-estabilidade, onde os resultados foram comparados ao

Tempo 0 (Inicial). Sabe-se que é necessário um período de 24 horas de espera após a preparação para submissão das amostras aos testes de estabilidade, pois é nesse intervalo de tempo que acontece a estabilização dos componentes da formulação (MORAIS, 2006).

Após as análises realizadas ao longo dos tempos T0 e 21 dias, os dados foram descritos nos **Quadros 2, 3 e 4**. Todos os parâmetros analisados foram comparados aos resultados obtidos no Tempo 0, sendo este utilizado como referência.

AMOSTRA	ANÁLISES	T0 (inicial)	T 21 dias		
			5 °C	25 °C	45 °C
ASPECTO		Homogêneo	S/A	S/A	S/A
COR		Incolor	Incolor	Incolor	Incolor
ODOR		Inodoro	Inodoro	Inodoro	Inodoro
CENTRIFUGAÇÃO		N/S	N/S	N/S	N/S
DENSIDADE (g/mL)		1,23	1,22	1,23	1,22
pH		4,50±0,060	4,51±0,067	4,55±0,054	4,60±0,040
ESPALHABILIDADE		7,3061	7,4425	7,2543	7,8654
PEGAJOSIDADE OU TACK		Pegajoso	Pegajoso	Pegajoso	Pegajoso
DESLISAMENTO		51 voltas	50 voltas	49 voltas	48 voltas

Quadro 2 – Resultados das análises físico-químicas do gel base.

Legenda: Sem alteração (S/A); Não Separou (N/S).

Fonte: Autores (2019).

AMOSTRA	ANÁLISES	0,2 %	0,2 %			0,5 %	0,5 %		
		T0	T 21 dias			T0	T 21 dias		
			5 °C	25 °C	45°C		5 °C	25 °C	45°C
ASPECTO		Homogêneo	S/A	S/A	S/A	Homogêneo	S/A	S/A	S/A
COR		E/B	S/A	S/A	S/A	E/B	S/A	S/A	S/A
ODOR		C/O	C/O	C/O	C/O	C/O	C/O	C/O	C/O
CENTRIFUGAÇÃO		N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
DENSIDADE (g/mL)		1,23	1,19	1,23	1,19	1,20	1,23	1,22	1,23
pH		4,30±0,050	4,27±0,078	4,2±0,047	4,36±0,073	4,30±0,010	4,29±0,064	4,40±0,087	4,50±0,054
ESPALHABILIDADE		10,1032	10,4323	10,4323	10,5451	10,2432	10,5644	10,3421	10,7654
PEGAJOSIDADE OU TACK		Pouco pegajoso	S/A	S/A	S/A	Pouco pegajoso	S/A	S/A	S/A
DESLISAMENTO		45 voltas	46 voltas	42 voltas	46 voltas	51 voltas	53 voltas	55 voltas	51 voltas

Quadro 3 – Resultados das análises físico-químicas do gel contendo óleo essencial de manjeriço a 0,2 % e 0,5 %, da marca BE.

Legenda: Característico do óleo (C/O); Não Separou (N/S); Esbranquiçado (E/B); Sem Alteração (S/A).

Fonte: Autores (2019).



AMOSTRA ANÁLISES	0,2 %	0,2 %			0,5 %	0,5 %		
	T0	T 21 dias			T0	T 21 dias		
		5 °C	25 °C	45°C		5 °C	25 °C	45°C
ASPECTO	Homogêneo	S/A	S/A	S/A	Homogêneo	S/A	S/A	S/A
COR	E/B	S/A	S/A	S/A	E/B	S/A	S/A	S/A
ODOR	C/O	C/O	C/O	C/O	C/O	C/O	C/O	C/O
CENTRIFUGAÇÃO	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
DENSIDADE (g/mL)	1,23	1,23	1,22	1,23	1,19	1,23	1,26	1,23
pH	4,37±0,043	4,31±0,032	4,40±0,012	4,38±0,015	4,55±0,023	4,62±0,020	4,55±0,019	4,49±0,00
ESPALHABILIDADE	10,3421	10,4840	10,3967	10,3023	10,2642	10,2134	10,4322	10,2464
PEGAJOSIDADE OU TACK	Pouco pegajoso	S/A	S/A	S/A	Pegajoso	S/A	S/A	S/A
DESLISAMENTO	45 voltas	47 voltas	44 voltas	45 voltas	58 voltas	65 voltas	63 voltas	65 voltas

Quadro 4 – Resultados das análises físico-químicas do gel contendo óleo essencial de manjerição a 0,2 % e 0,5 % da marca PY.

Legenda: Característico do Óleo (C/O); Não Separou (N/S); Esbranquiçado (E/B); Sem Alteração (S/A).

Fonte: Autores (2019).

Completados os 21 dias foram realizadas as análises de pré-estabilidade das amostras do gel base e do gel contendo óleo essencial de manjerição. Para Casale e Valentini (2017) o desenvolvimento de uma forma farmacêutica deve ter como um dos critérios de avaliação parâmetros físicos, como características organolépticas por exemplo.

Nos resultados obtidos, referentes aos ensaios organolépticos (cor, odor e aspecto) as amostras do gel base mantiveram suas características preservadas. Já os resultados obtidos do gel contendo óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum* L.), quanto às características organolépticas da formulação, houve alteração na cor (variou de incolor a esbranquiçado) devido à incorporação do óleo essencial ao gel, de ambos os fabricantes (BE e PY).

Comparando as análises macroscópicas do T0 e T21 todas as amostras submetidas à centrifugação apresentaram aspecto sem alteração. A centrifugação foi realizada como análise preliminar, a fim de determinar qualquer sinal de instabilidade indicativa de necessidade de reformulação (BRASIL, 2004).

Os resultados dos valores de pH das amostras se mantiveram com pequenas variações, com valores entre 4,27 e 4,62 o que demonstrou que as formulações se apresentaram estáveis.

O pH de uma formulação deve garantir a estabilidade dos ingredientes, sua eficácia e segurança (BRASIL, 2004), bem como ser compatível com os fluidos biológicos de acordo com a via de administração pretendida. A maior estabilidade dos sistemas dá-se quando estes são mantidos dentro de uma pequena variação de pH demonstrando instabilidade quando ele se afasta de seu limite (GENNARO, 2000).

Quanto ao teste de espalhabilidade e às avaliações dos comportamentos sensoriais in vitro, da base gel e das amostras de gel como os óleos essenciais, todas se apresentaram satisfatórias, ou seja, sem alterações em comparação ao T0 (inicial).

A seguir são apresentados na **Tabela 1 e Tabela 2** os resultados da análise de

atividade antibacteriana frente ao micro-organismo *Staphylococcus aureus*.

AMOSTRAS	Halo (mm)
Controle (+) Antibiótico (Cloranfenicol)	29,33 ± 1,777
Controle (-) Gel base	6,66 ± 0,888
Óleo essencial PY "puro"	18,66 ± 3,777
Óleo essencial BE "puro"	35,66 ± 4,222
Gel + Óleo essencial PY (0,2 %)	7,66 ± 0,444
Gel + Óleo essencial PY (0,5 %)	9,00 ± 0,666
Gel + Óleo essencial BE (0,2 %)	7,66 ± 1,111
Gel + Óleo essencial BE (0,5 %)	9,33 ± 0,888

Tabela 1 – Resultados da média e desvio padrão, dos halos de inibição das amostras em milímetros, frente ao micro-organismo *Staphylococcus aureus*.

Fonte: Autores (2019).

Os óleos essenciais puros de *Ocimum basilicum* BE e PY foram analisados para avaliar suas atividades antimicrobianas frente ao *Staphylococcus aureus*. Os isolados do micro-organismo foram mais sensíveis ao óleo essencial puro BE, do que ao do PY, onde o halo de inibição foi de 35,66 frente a 29,33 mm do controle positivo.

Segundo Almeida (2013) o óleo essencial de *O. basilicum*, apresenta atividade antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillo cereus*, *Bacillo subtilis* dentre outras bactérias e dessa forma, em concordância com os resultados obtidos. Destaca-se nessa análise que o gel base e todas as outras amostras apresentaram halos frente ao micro-organismo *Staphylococcus aureus*. Já os maiores halos frente ao *Staphylococcus aureus* foi da amostra de gel contendo óleo essencial BE (0,5 %).

Almeida (2013) informa que a atividade antimicrobiana do óleo essencial de manjeriço tem sido relatada como sendo, predominantemente, associada aos seus constituintes majoritários, metil chavicol e o linalol.

AMOSTRAS	PERCENTUAL DE INIBIÇÃO
Controle (+) Antibiótico (Cloranfenicol)	100,00 %
Controle (-) Gel base	22,70 %
Óleo essencial PY "puro"	63,62 %
Óleo essencial BE "puro"	121,58 %
Gel + Óleo essencial PY (0,2 %)	26,11 %
Gel + Óleo essencial PY (0,5 %)	30,68 %
Gel + Óleo essencial BE (0,2 %)	26,11 %
Gel + Óleo essencial BE (0,5 %)	31,81 %

Tabela 2 - Resultado em percentual de inibição (%), das amostras frente aos micro-organismos *Staphylococcus aureus*.

Fonte: Autores (2019).

Os resultados demonstraram que a amostra do óleo essencial BE "puro" teve um percentual de ação inibitória para a bactéria *Staphylococcus aureus* acima do controle positivo (121,58 %), diferentemente do óleo essencial PY "puro" que apresentou 63,62 %.

Isso demonstra que a forma de cultivo do material vegetal, fatores extrínsecos como: local, altitude, *época do ano*, *horário de colheita*, *nutrientes do solo* e métodos de extração podem influenciar diretamente no quantitativo de metabólitos secundários (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Os métodos de extração comumente utilizados são prensagem, enfloração e principalmente destilação por arraste a vapor e esses variam de acordo com a parte da planta que contenha a maior concentração dos óleos essenciais (SILVA, 2011).

Baudoux (2018) cita três categorias dos óleos essenciais: padrão de qualidade industrial (aonde a espécie botânica podem não ser corretamente identificada, são cultivadas industrialmente, colhidas fora da melhor época e com destilações incompletas que podem atingir altas temperaturas e pressão – aplicabilidade ideal é para indústria cosmética e perfumaria); padrão 100% puros e 100% naturais (têm qualidade mediana, pois também podem provir de espécie botânica não identificada corretamente e a colheita pode ser realizada desrespeitando a melhor época – não aconselhado para uso terapêutico); e por fim os OE autênticos e quimiotipados, são mais ativos no plano terapêutico, pois respondem à vários quesitos desejáveis no conjunto plantio, colheita e extração. São os únicos OE que deveriam ser utilizados para fins terapêuticos

A diferença da atividade antimicrobiana apresentada pelos dois óleos testados deve ter relação aos tipos citados. O ponto em questão é que o consumidor final desconhece essas diferenças, pois também não são explícitas no rótulo e pode apelar por questão de valores que diferem bastante.

A amostra do gel contendo óleo essencial BE a 0,2 e 0,5 % apresentaram percentuais

de inibição próximos ao do gel contendo *óleo essencial PY* quando formulado nas mesmas concentrações, diferentemente quando comparado a ação antibacteriana entre os óleos essenciais puros (**Gráfico 1**).

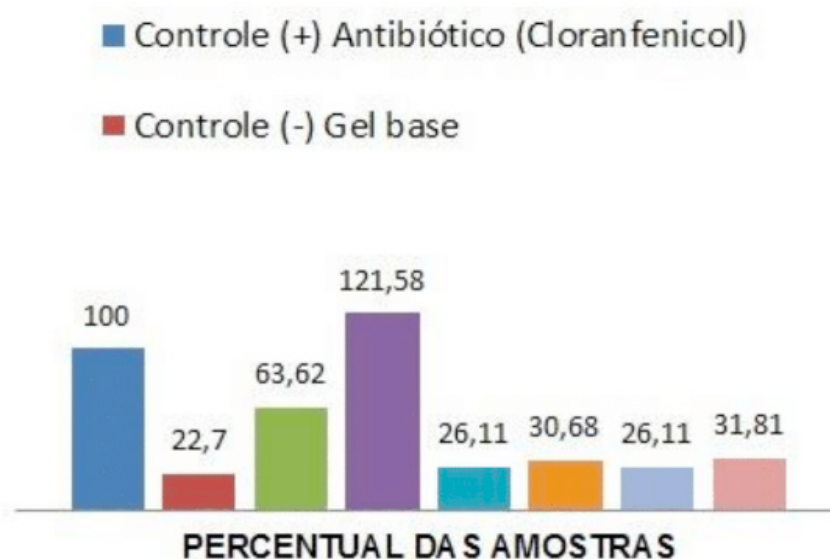


Gráfico 1 - Resultado em porcentagem de inibição (%) das amostras frente ao micro-organismo *Staphylococcus aureus*.

Fonte: Autores (2019).

## 4 | CONCLUSÃO

Concluiu-se através das análises de pré-estabilidade que tanto as amostras do gel base quanto os géis contendo OE 0,2 e 0,5 % de ambas as marcas, mantiveram suas características estáveis durante os 21 dias de análise em todas as condições do estudo.

Nos testes de atividade antibacteriana a amostra de óleo essencial BE “puro” demonstrou uma inibição bacteriana duas vezes maior frente ao micro-organismo *Staphylococcus aureus* do que o a amostra PY “puro”, podendo sugerir diferença na identificação, proveniência e coleta do material vegetal utilizado na produção do OE dentre outros fatores.

Todas as amostras apresentaram formação de halos frente ao micro-organismo testado demonstrando ação antibacteriana para ele, mas a amostra de melhor eficiência foi o gel contendo óleo essencial BE a 0,5 %.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. B. **Prospecção tecnológica de óleos essenciais de *Schinus terebinthifolius* e desenvolvimento de um creme vaginal à base de *Ocimum basilicum* para tratamento de candidíase.** Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão - SE, 2013.

ANSEL, H. C. et al. **Farmacotécnica:** formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8. ed. São Paulo: Premier, 2007. 775p.

BAUDOUX, D. **O Grande Manual de Aromaterapia**. [Tradução: Mayra Corrêa e Castro] Belo Horizonte: Editora Lazlo, 2018.

BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 42, n. 4, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-93322006000400008&script=sci\\_abstract&tlng=ES](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-93322006000400008&script=sci_abstract&tlng=ES)>. Acesso em: 19 Set. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. v. 1, Brasília: ANVISA, 2004.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. 2. ed. Brasília: ANVISA, 2008.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para avaliação de produtos cosméticos**. 2 ed. Brasília: ANVISA, 2012.

BrCAST. BRASILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING **Método de Disco-difusão do EUCAST para Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos**. Versão em Português do the EUCAST Disk Diffusion Method (2017). Disponível em: <<http://BrCAST.org.br/documentos/>>. Acesso em: 19 Set. 2019.

CAMARGO JUNIOR, F. B. **Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo pantenol e avaliação dos efeitos hidratantes na pele humana por bioengenharia cutânea**. p. 153, Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006. Disponível em: <<file:///C:/Users/simon/Downloads/FLavioBuenodeCamargoJunior.pdf>>. Acesso em: 10 Set. 2019.

CASALE, F. M.; VALENTINI, S. A. Controle de qualidade de formas farmacêuticas tópicas utilizando diferentes extratos vegetais. **Revista Iniciare**, Campo Mourão, v. 2, n. 1, p. 36-48, jan. /jun. 2017. Disponível em: <<http://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/iniciare/article/view/2407/921>>. Acesso em: 24 Set. 2019.

CORAZZA, S. **Aromacologia: uma ciência de muitos cheiros**. São Paulo: Editora SENAC, 2002.

DAL'BELO, S. E. **Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extratos de chá verde e *Ginkgo biloba***. 2008. Tese (Doutorado em Medicamentos e Cosméticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2008. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-02102008-164449/pt-br.php>>. Acesso em: 24 Jun. 2019.

FERREIRA, A. O. **Guia prático farmácia magistral**. 4 ed., rev. e ampl. – São Paulo: Pharmabooks Editora, 2010. p.318.

FIGUEIREDO, B. K.; MARTINI, P. C.; MICHELIN, D. C. **Desenvolvimento e estabilidade preliminar de um fitocosmético contendo extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) (L.) Kuntze (Theaceae)** *Centro Rev. Bras. Farm.* 95 (2): 770 –788, 2014. Disponível em: <[http://www.rbfarma.org.br/files/637-25-1-2013-Desenvolvimento\\_e\\_estabilidade\\_preliminar\\_de\\_um\\_fitocosmético\\_contendo\\_extrato.pdf](http://www.rbfarma.org.br/files/637-25-1-2013-Desenvolvimento_e_estabilidade_preliminar_de_um_fitocosmético_contendo_extrato.pdf)>. Acesso em: 23 Out. 2019.

GENNARO, A. R. **Remington: The science and practice of pharmacy**. ed. 20, Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins, 2000.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, Apr. 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422007000200026&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000200026&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 12 Dez. 2019.

GROSSMAN, L. **Óleos essenciais na culinária, cosmética e saúde**. São Paulo: Optionline, 2005.

ISAAC, V. L. B et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/70617/2-s2.0-54349121836.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 23 Set. 2019.

LAMEIRA, O. A.; PINTO, J. E. B. P. **Plantas medicinais: do cultivo, manipulação e uso à recomendação popular**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008.

MORAIS, G. G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões com cristais líquidos acrescido de xantina para tratamento da lipodistrofia ginóide (celulite)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, 2006. Disponível em: <<https://www.google.com/h?q=este+de+estabilidade+moraes+2006&oq=teste+de+estabilidade+moraes+2006&aqs=chrome.69i57.12147j1j7&sourceid=chrome&ie=UTF->>>. Acesso em: 18 Out. 2019.

SANTOS, J. F. **Cultivo hidropônico de manjerição sob estresse salino: crescimento, produção e aspectos bioquímicos**. Tese (Doutorado), 2017. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Disponível em: <[https://www.ufrb.edu.br/pgea/images/Teses/JAMILLE\\_FERREIRA\\_DOS\\_SANTOS.pdf](https://www.ufrb.edu.br/pgea/images/Teses/JAMILLE_FERREIRA_DOS_SANTOS.pdf)>. Acesso em: 24 Set. 2019.

SILVA, M. G. F. **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos hidroalcóolicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjerição (*Ocimum basilicum* L.)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2011. Disponível em: <<http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/440>>. Acesso em: 01 Dez. 2019.

WEISS, C.; HAMAD, F., FRANÇA, A. J. V. B. D. V. **Produtos cosméticos orgânicos: definições e conceitos**. 2011. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/68310983-Produtos-cosmeticos-organicos-definicoes-e-conceitos.html>>. Acesso em: 01 Dez. 2019.



## ANÁLISE SENSORIAL DE DERMOCOSMÉTICOS PARA ACNE COM ÓLEOS ESSENCIAIS DE MELALEUCA E CRAVO-DA-ÍNDIA

*Data de aceite: 05/06/2020*

*Data de submissão: 13/06/2020*

### Lucas Henrique Nascimento Souza

Iniciação Científica, Universidade São Francisco,  
USF

Bragança Paulista, São Paulo, Brasil

### Emily Jhayane Silva

Iniciação Científica, Universidade São Francisco,  
USF

Bragança Paulista, São Paulo, Brasil

### Iara Lúcia Tescarollo

Curso de Farmácia da Universidade São  
Francisco, USF

Grupo de Pesquisas em Meio Ambiente e  
Sustentabilidade (GPMAS)

Bragança Paulista, São Paulo, Brasil

**RESUMO:** A análise sensorial tem sido bastante utilizada como um instrumento de medida científica para avaliar a qualidade de produtos. O presente estudo teve por objetivo realizar a análise sensorial em dermocosméticos para acne formulados com óleo de melaleuca e cravo-da-índia a fim de determinar, por meio de método afetivo, a preferência dos consumidores em relação aos produtos testados. A análise sensorial foi realizada com

30 julgadores não treinados em uma sessão, usando escala hedônica estruturada de nove pontos, que demonstra a ordem crescente de gosto e escala de intenção de compra de cinco pontos. Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente por meio do cálculo de índice de aceitabilidade e por frequência dos escores obtidos. Com este estudo foi possível obter importantes informações das características de dermocosméticos para acne formulados com óleo de melaleuca e cravo-da-índia e que podem ser usadas durante as diferentes etapas de desenvolvimento, processo e manutenção, comercialização e marketing.

**PALAVRAS-CHAVE:** Análise sensorial. Óleos essenciais. Cosméticos.

### SENSORY ANALYSIS OF DERMOCOSMETICS FOR ACNE WITH ESSENTIAL OILS OF MELALEUCA AND CLOVE

**ABSTRACT:** Sensory analysis has been widely used as a scientific measurement instrument to assess product quality. The present study aimed to perform sensory analysis of dermocosmetics for acne. Dermocosmetics were formulated with tea tree and clove oil in order to determine, by means of an affective method, consumers'



preference in relation to the tested products. Sensory analysis was carried out with 30 untrained judges in one session, using a structured hedonic scale of nine points, which shows the increasing order of taste and the five-point purchase intention scale. The results obtained were treated statistically by calculating the acceptability index and the frequency of the scores obtained. With this study it was possible to obtain important information on the characteristics of dermocosmetics for acne formulated with tea tree and clove oil and that can be used during the different stages of development, process and maintenance, commercialization and marketing.

**KEYWORDS:** Sensory analysis. Essential oils. Cosmetics.

## 1 | INTRODUÇÃO

O campo vivencial do ser humano é emocional, os cinco sentidos representam a chave das sensações, do sentir. O bem-estar é alicerçado na vivência emocional e estimular os sentidos é o meio eficaz de se edificar o campo das sensações e das emoções, ambiente este multidimensional e de possibilidades infinitas. Os estímulos sensoriais agem sobre o sistema cerebral, propiciando a produção de endorfinas e, conseqüentemente, o bem-estar (MORAES, 2007).

A análise sensorial é normalmente realizada levando-se em consideração as fases nos quais o usuário tem contato com o produto. Prevalcem os estímulos associados a apenas três dos cinco sentidos: visão, tato e olfato. A comunicação em marketing leva em conta os estímulos aos sentidos tendo como referência técnica a criatividade e a capacidade de inovação em formulações, embalagens e formatos (MORAES, 2007).

Para os novos produtos, a análise sensorial tem sido utilizada como instrumento de medida científica na avaliação da qualidade tanto de utilização farmacêutica como também na área cosmética e alimentícia. É fonte de informação única e a mais próxima possível do ser humano, porque avalia a aceitação e preferência dos produtos, quanto aos atributos como a aparência, viscosidade, fragrância, espalhabilidade, resíduo graxo, secagem rápida, podendo ser muito útil na elucidação de problemas relacionados à aceitação do produto pelo consumidor (ISAAC et al, 2012).

Através das reações fisiológicas resultantes de certos estímulos os indivíduos são capazes de interpretar as propriedades intrínsecas aos produtos. Isso ocorre devido as sensações originadas das reações fisiológicas que foram transmitidas em função de resposta ao estímulo gerado. O estímulo é medido por processos físicos e químicos e as sensações por efeitos psicológicos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Para realizar a análise sensorial de um produto, existem vários métodos, cada um com objetivos específicos, que devem ser selecionados conforme o tipo da análise. Os métodos estão divididos em três grandes grupos: métodos afetivos consistem na manifestação subjetiva do juiz sobre o produto testado, demonstrando se tal produto

agrada ou desagrada; métodos de diferença ou discriminativos são realizados através de testes que irão indicar a existência ou não diferença entre amostras realizadas; métodos analíticos ou descritivos são assim denominados por descreverem e quantificarem as informações a respeito das características que está sendo avaliada (TEXEIRA, 2009).

Através dos testes afetivos é possível expressar o estado emocional ou reação afetiva do julgador ao escolher um produto pelo outro. É a forma usual de se medir a opinião de um grande número de consumidores com a respeito às preferências, gostos e opiniões. As escalas mais empregadas são: de intensidade, a hedônica, do ideal e de atitude ou de intenção. Os julgadores não precisam ser treinados, somente ser consumidor frequente do produto a ser avaliado. Os testes afetivos podem ser aplicados em laboratórios, localização central e uso doméstico. São classificados em duas categorias: de preferência (escolha) e de aceitação (categoria) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Os testes discriminativos medem atributos específicos pela discriminação simples, indicando por comparação, possíveis diferenças ou não das amostras e também na formação da equipe. Os testes discriminativos mais empregados são o triangular, duo-trio, ordenação, comparação pareada e comparação múltipla (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Métodos analíticos ou descritivos são bastante utilizados em análise sensorial. São testes que descrevem os componentes ou parâmetros sensoriais e medem a intensidade com que são percebidos. Nesse tipo de análise descritiva o provador também pode avaliar através de uma escala e o grau de intensidade com que cada atributo está presente. Os julgadores devem ser treinados para usar a escala de forma consistente em relação à equipe e as amostras, durante avaliação. Exige-se cuidado ao montar a equipe sensorial e durante a padronização do preparo e apresentação das amostras que devem ser codificadas com número de três dígitos aleatórios. As técnicas descritivas mais utilizadas são o do perfil de sabor, perfil de textura, análise quantitativa e o de tempo-intensidade. Os parâmetros ou componentes sensoriais utilizados em análise descritiva são: aparência; odor e aroma; textura manual; textura ora; sensações táteis e superficiais; sabor e gosto (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

No universo farmacêutico e na indústria cosmética, a análise sensorial tem sido muito importante para o desenvolvimento de novos produtos, reformulação dos já existentes, estudo de vida de prateleira (*shelf life*), determinação das diferenças e similaridades apresentadas entre concorrentes, identificação das preferências dos consumidores e para a otimização e melhoria da qualidade do produto (ISAAC et al., 2012). Os componentes escolhidos para uma formulação podem modificar os atributos sensoriais e também influenciar na espalhabilidade, cor, odor, sensação tátil e demais critérios, assim, a análise sensorial mesmo sendo considerada subjetiva, é de suma importância para obtenção de um produto pelo consumidor (ISAAC et al., 2012). A análise sensorial se tornou uma ferramenta cada vez mais utilizada não apenas no sentido de se obter produtos eficazes

mas também que sejam bem aceitos pelos consumidores potenciais.

O objetivo do presente trabalho consistiu em avaliar a aceitabilidade sensorial de dermocosméticos formulados com óleos essenciais de melaleuca e cravo-da-índia; analisar por meio de método afetivo a preferência frente às formulações desenvolvidas; comparar o desempenho dos produtos na pele por meio de parâmetros como sensação ao uso, espalhabilidade e equilíbrio.

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Formulações estudadas

As matérias-primas foram selecionadas e denominadas de acordo com *International Nomenclature Cosmetics Ingredients* (INCI). Foram preparadas duas fórmulas para comparação do efeito causado pela variação dos emolientes, conservantes, modificadores do sensorial e insumos orgânicos certificados

A amostra F1 foi formulada com *Cetearyl Olivatate (and) Sorbitan Olivatate* (Olivem® 1000) – 7,0%; *Tribehenin PEG-20 Esters* (Emulium® 22) – 1,0%; *Glycerin* (Glicerina) – 5,0%; *Dissodium EDTA* (EDTA dissódico) – 0,1%; *Methylparaben* (Metilparabeno) – 0,18%; *Propylparaben* (Propilparabeno) – 0,05%; *DL- $\alpha$ -tocopherol-acetate* (Vitamina E) – 1%; *Decamethylcyclopentasiloxano* (ciclometicone), *Dimethicone Crosspolymer* (DC 9040) – 1,5%; *Cyclopentasiloxane* (DC 245) – 2,0%; *Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer* (Aristoflex AVC) – 1%; *Starch (and) Polymethylsilsesquioxane* (Dry-Flo Pure) – 5,0%; óleos essenciais de melaleuca 0,5%, cravo-da-índia 0,01% e água quantidade suficiente para 100%

Na amostra F2 prevaleceram as matérias-primas reconhecidas por organizações certificadoras de produtos orgânicos (ECOCERT). Foram utilizados o *Cetearyl Olivatate (and) Sorbitan Olivatate* (Olivem® 1000) – 7,0%; *Theobroma Grandiflorum Seed Butter* (Manteiga de cupuaçu) – 1,0%; *Glycerin* (Glicerina) – 5,0%; *Caprylhydroxamic Acid (and) Caprylyl Glycol (and) Glycerin* (Spectrastat™) – 1,0%; *DL- $\alpha$ -tocopherol-acetate* (Vitamina E) – 1%; *Xanthan gum* (Goma xantana) -0,5%; *Tapioca Starch* (Tapioca Pure) – 5,0%; óleos essenciais de melaleuca 0,5%, cravo-da-índia 0,01% e água quantidade suficiente para 100%.

Os óleos essenciais de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) foram avaliados antecipadamente por cromatografia gasosa em condições padronizadas. Os óleos foram obtidos por destilação por arraste à vapor das folhas.

### 2.2 Delineamento experimental da análise sensorial

A análise sensorial foi realizada em condições padronizadas de umidade, temperatura e luminosidade, com as formulações propostas a partir de adaptações dos protocolos

descritos no manual de métodos físico-químicos para análise de alimentos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008) e com base na literatura disponível para área farmacêutica (ISAAC et al., 2012). A avaliação das amostras F1 e F2 foi realizada por uma equipe composta de 30 julgadores não treinados (amostra por conveniência), sem restrição quanto ao tipo de pele e com faixa etária entre 18 anos e 40 anos, consumidores potenciais de produtos dessa natureza. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Francisco sob o CAAE nº. 10195819.0.0000.5514 e Parecer n. 3.263.307.

As análises foram feitas na região anterior dos antebraços de cada um dos participantes da pesquisa. O antebraço foi dividido em 2 quadrantes: em cada quadrante os participantes aplicaram uma das formulações (10 rotações sentido horário): F1 (amostra com insumos sintéticos) e F2 (amostra com insumos reconhecidos por certificadora de produtos orgânicos).

Após aplicação dos produtos os participantes da pesquisa forneceram informações sobre suas percepções em relação aos seguintes atributos: aspecto, sensação ao uso, espalhabilidade, sensação após o uso, empregando escala hedônica de 9 pontos (1- desgostei muitíssimo a 9- gostei muitíssimo).

Para a intenção de compra foi utilizada uma escala de 5 pontos (1- decididamente não compraria a 5- certamente compraria). Os dados foram tabulados e avaliados estatisticamente através da análise de variância considerando um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) utilizando programa INSTAT (2000).

Os resultados foram analisados através do Índice de Aceitabilidade (IA) e por distribuição de frequência de notas de aceitação. Para realizar o cálculo de IA foi adotada a expressão matemática segundo Dutcosky (2011) e Minim (2010), sendo  $IA (\%) = (A \times 100) / B$ , Onde: IA – índice de aceitabilidade do produto avaliado; A – nota média da escala hedônica; B – nota máxima possível para ao produto. Valores de IA superiores que 70% são considerados satisfatórios.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sociedade atual vem exigindo a adoção de tecnologias de produção econômicas, ecológicas e seguras, que por sua vez, requerem um enorme esforço por parte dos investigadores na pesquisa de compostos distintos, naturais e competitivos (BORGES et al., 2013). O emprego de insumos de origem natural tem sido alvo de grande interesse no desenvolvimento de produtos e apresentam vantagens frente a alguns insumos sintéticos no que diz respeito ao impacto ambiental e toxicidade.

Dentre os insumos de origem natural estão os óleos essenciais, compostos voláteis concentrados formados por substâncias vitais, extraídos de plantas aromáticas e medicinais por meio de processos específicos. São utilizados em grande número de

ações terapêuticas (BRASIL, 2018). O uso de óleos essenciais como recurso natural para tratar os processos acneicos se faz eficaz, devido suas atividades antimicrobianas comprovadas contra *Cutibacterium acnes*, antes chamado de *Propionibacterium acnes*, que é uma bactéria anaeróbia Gram-positiva presente na pele da maioria das pessoas saudáveis, que em contato com os poros epiteliais promove a inflamação dos folículos pilosos contribuindo para o surgimento da acne (BHATIA et al.,2004; RIBEIRO, 2010; LYRA, 2019)

A ECOCERT (BRASIL, 2005), organismo de inspeção e certificação a serviço do homem e do meio ambiente no Brasil, define como orgânico o produto que tenha (incluindo a água) no mínimo de 95% de ingredientes vegetais certificados como orgânicos sobre o total de ingredientes vegetais e para produtos com 70% a 95% de ingredientes orgânicos serão classificados em seus rótulos como “Produto Com Ingredientes Orgânicos”. A amostra F2 atende aos requisitos exigidos pela ECOCERT.

É bem conhecido o fato de que o uso de insumos de diferentes origens pode alterar a qualidade sensorial do produto final. Pela análise sensorial é possível verifica se existe diferença significativa entre duas amostras tratadas diferentemente, quando alguma matéria-prima é substituída na formulação, ou ainda quando ocorrem mudanças no processamento, embalagem ou estocagem (ISAAC et al., 2012).

Neste estudo a análise sensorial foi realizada para determinar, de acordo com a percepção dos julgadores, as características de aceitabilidade das diferentes composições de dermocosméticos emulsionados contendo óleos essenciais de melaleuca e cravo-da-índia, e se estas afetam na sensação causada pelo produto durante o uso.

Participaram do estudo 30 julgadores não treinados sendo 96,6% do gênero feminino e 3,4% do gênero masculino, faixa etária compreendida entre 18 a 40 anos. A Tabela 1 mostra a pontuação média e desvios-padrão relacionados com os atributos: aspecto, cor, odor. Conforme os resultados obtidos, foi possível observar que as amostras não apresentaram diferenças significativas, entretanto, o atributo odor correspondeu à menor pontuação, muito provavelmente decorrente das características odoríferas intensas dos óleos essência estudados. O óleo essencial de melaleuca apresenta aroma típico canforado, nota alta, difícil de ser dissimulado. O óleo essencial de cravo-da-índia apresenta aroma típico apimentado doce, nota média. A Tabela 1 também mostra os IA foram superiores a 70% para os atributos aspecto e cor.

Amostras	Aspecto	Cor	Odor
	Média ± DP IA (%)	Média ± DP IA (%)	Média ± DP IA (%)
F1	7,17±1,76 79,7	7,57±1,14 84,1	5,83±1,97 64,7
F2	6,87±1,57 76,3	7,50±1,14 83,3	6,73±1,91 74,4

Tabela 1 – Valores médios e desvios-padrão das notas de intensidade para os atributos avaliados.

Não houve diferença significativa entre as fórmulas ( $p < 0,05$ ) pelo teste t-Student, DP: Desvio-padrão. IA: Índice de Aceitabilidade (ideal > 70%).

Fonte: Dados da Pesquisa

Dentre os atributos cosméticos avaliados para as amostras F1 e F2, não houve diferença significativa em relação ao toque, espalhabilidade e sensação após o uso (Tabela 2). Nota-se que a amostra F2 apresentou menores pontuações no item espalhabilidade.

	Sensação ao uso	Espalhabilidade	Sensação após uso
	Média ± DP IA (%)	Média ± DP IA (%)	Média ± DP IA (%)
F1	6,70±1,70 74,4	7,10±1,90 80,7	7,10±1,48 78,6
F2	7,10±1,65 78,8	6,20±2,10 69,7	6,93±1,91 77,0

Tabela 2 – Valores médios e desvios-padrão das notas de intensidade para os atributos avaliados.

Não houve diferença significativa entre as fórmulas ( $p < 0,05$ ) pelo teste t-Student, DP: Desvio-padrão. IA: Índice de Aceitabilidade (ideal > 70%).

Fonte: Dados da Pesquisa

Os resultados encontrados na Tabela 2 podem ser atribuídos pela substituição dos insumos sintéticos por matérias-primas naturais. Foi possível observar a resistência dos julgadores em adequar à um produto onde prevaleça ingredientes de origem vegetal, em substituição aos sintéticos, este resultado não infere na eliminação da proposta, mas sim, numa notificação que pode levar ao estudo de uma nova formulação. Mesmo assim, a Figura 1 demonstra que a intenção de compra para a amostra F2 apresentou bom potencial mercadológico para a versão estudada.

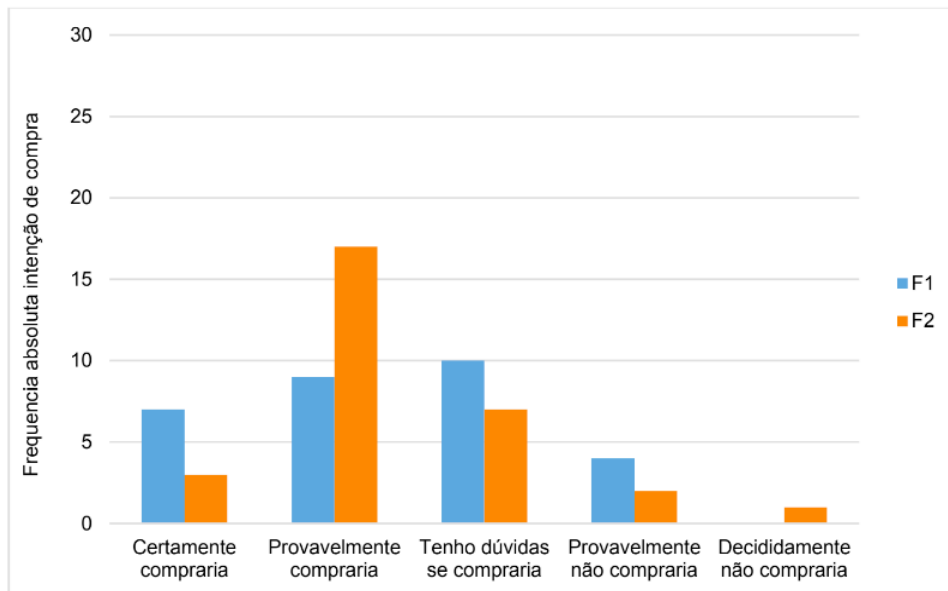


Figura 3 – Frequência absoluta da intenção de compra das amostras F01 e F02. (Fonte: Dados da Pesquisa).

Apesar de não terem sido localizados estudos de análise sensorial realizados com formulações similares, estes achados puderam demonstrar o desafio em obter produtos diferenciados que sejam bem aceitos sob o ponto de vista sensorial.

#### 4 | CONCLUSÃO

Mediante as condições experimentais adotadas neste estudo foi possível concluir que as formulações F1 e F2 se apresentaram agradáveis e adequadas sob aspecto sensorial e obtiveram aceitabilidade considerável, indicando bom potencial mercadológico. Estes resultados poderão ser utilizados como orientação no desenvolvimento de dermocosméticos para acne contribuindo com a seleção de diferentes ingredientes que possam agregar diversas características sensoriais aos produtos. A abordagem adotada também permitiu a construção de uma base científica no desenvolvimento de preparações e seleção dos componentes no decorrer de seu processo produtivo.

#### REFERÊNCIAS

BHATIA, Ajay et al. Propionibacterium acnes and chronic diseases. In: **The Infectious Etiology of Chronic Diseases: Defining the Relationship, Enhancing the Research, and Mitigating the Effects: Workshop Summary.**, Knobler, SL et al.(eds.). 2004. p. 74-80.

LYRA, L.P.S. Desenvolvimento de nanoemulsão de geraniol e óleo essencial da palmarosa (*Cymbopogon martinii*) e sua ação inibitória sobre linhagens de *Cutibacterium acnes*. Botucatu, 2019. Disponível em: [https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/181641/lyra\\_lps\\_me\\_bot.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/181641/lyra_lps_me_bot.pdf?sequence=3&isAllowed=y). Acessado em: 13/06/2020.

RIBEIRO, J.C. **Cosmetologia Aplicada a Dermoestética**, 2a ed., São Paulo: Pharmabooks, 2010, 441p.



IINSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** – São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.

ISAAC, V.; CHIARI, B.G; MAGNANI, C.; CORRÊA, M.A. Análise sensorial como ferramenta útil no desenvolvimento de cosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 4, n.33, p.479-488, 2012.

MINIM, V.PR. **Análise sensorial: estudo com consumidores**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2010.

DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. ed. Curitiba: Champagnat. 239p. 2011.

BORGES, C.D.; VENDRUSCOLO, C.T. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 29, n. 2, p. 171-188, 2008.

BRASIL, ECOCERT. Organismo de inspeção e certificação a serviço do homem e do meio ambiente no Brasil. 2005. Elaborado por ECOCERT Brasil. Disponível em:< <http://brazil.ecocert.com/politicas-e-diretrizes-ECOCERT>>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria-Executiva. Secretaria de Atenção à Saúde. **Glossário temático: práticas integrativas e complementares em saúde** / Ministério da Saúde, Secretaria-Executiva, Secretaria de Atenção à Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2018b; 180p

TEIXEIRA, L.V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 366, p. 12-21, 2009.

MORAES, L. Sabonetes: inovando no desenvolvimento com tecnologia. **Cosmetics & Toiletries: Brasil, São Paulo**, v. 19, n. 6, p. 62-71, 2007.

## ANÁLISE SENSORIAL E VIABILIDADE DA GELEIA E PIRULITO DE BIOTINA

*Data de aceite: 05/06/2020*

### **Bruna Aparecida dos Santos Marubayashi**

Unioeste – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

<http://lattes.cnpq.br/3964949683855364>

### **Bruna Carolina Saraiva dos Santos**

Unimar - Universidade de Marília

<http://lattes.cnpq.br/6657256274423708>

### **Nathália Larissa Cordeiro dos Santos**

Unimar - Universidade de Marília

### **Aline Cristina Membribes Garcia**

Unimar - Universidade de Marília

### **Juliana Agostinho Lopes Barbosa**

Unimar - Universidade de Marília

<http://lattes.cnpq.br/8025589210644242>

**RESUMO:** A análise sensorial de um produto se baseia na interpretação das reações emitidas pelos consumidores, que julgam a partir de seus cinco sentidos: visão, olfato, tato, audição e paladar, e com base nesses dados, identificar quais quesitos são importantes para o público e elaborar uma formulação que se adeque à essas exigências. O presente estudo utilizou pirulito e geleia de biotina, formulações versáteis e que facilitam a adesão ao tratamento de pacientes que fazem reposição dessa vitamina

diariamente, seja por não tê-la em quantidades satisfatórias no organismo (por consumo insuficiente ou deficiência na enzima biotinidase – essencial para o metabolismo da biotina) ou para fins estéticos. A avaliação sensorial foi feita com 50 julgadores não treinados e revelou resultados satisfatórios, com 56% de aceitação do pirulito e 64% da geleia, além de apresentar 74% e 66% de intenções de compra, respectivamente. Os produtos tiveram uma aceitação e intenção de consumo significativas, demonstrando a viabilidade na comercialização de tais formas farmacêuticas, além de ter a qualidade e possibilidade de sua implantação verificadas

**PALAVRAS-CHAVE:** Biotina. Biotinidase. Formas farmacêuticas. Geleia. Pirulito.

### SENSORY AND VIABILITY ANALYSIS OF BIOTIN LOLLIPOP AND JELLY

**ABSTRACT:** The sensorial analysis of product are based on the interpretation of the reaction emitted by consumers, that judge from their five senses: vision, touch, smell, hearing and taste, and based on these facts, identify which items are important for the public and create a formulation that fit these requirements. The present study used biotin lollipop and jelly,

versatile formulations that make easier the adherence to treatment of patients who do the daily replacement of this vitamin, either by not having it in sufficient quantities in the body (for insufficient consumption or for having a deficiency of biotinidase – essencial for the biotin metabolism) or for aesthetic motivations. Sensory evaluation was performed with 50 untrained judges and showed satisfactory results, with 56% acceptance of lollipop and 64% of jelly, in addition to presenting 74% and 66% of purchase intentions, respectively. The products had a significant acceptance and intention of consumption, demonstrating the feasibility in the commercialization of such pharmaceutical forms, besides having the quality and possibility of their implementation verified

**KEYWORDS:** Biotin. Biotinidase. Pharmaceutical forms. Jelly. Lollipop.

## 1 | INTRODUÇÃO

A caracterização das propriedades sensoriais de produtos alimentícios tem como objetivo identificar a aceitação do público alvo, apenas sendo possível a obtenção desses resultados a partir de um estudo com métodos validados e eficácia comprovada. Por definição, a análise sensorial se baseia na interpretação das reações expressadas pelos voluntários que analisam o produto através dos cinco sentidos: visão, tato, olfato, audição e sabor (Hui, 2005).

A análise sensorial de um produto permite estabelecer quais características são importantes para o consumidor, e avalia se o mesmo atende à essas expectativas. Esse é um estudo subjetivo, que depende dos gostos pessoais do consumidor, que foram moldados anteriormente pelas experiências passadas, preferências pessoais e expectativas, entre outros parâmetros (Muñoz, 1992).

A biotina é uma vitamina que está envolvida em diversas reações do nosso organismo, além de apresentar benefícios estéticos, melhorando a aparência da pele, cabelos e unhas (GONÇALVES, 2010, apud FRANCO, 2004). No entanto pode haver uma deficiência no metabolismo da biotina, que se dá por fatores diversos, desde alimentação pobre em nutrientes e uso de alguns medicamentos à deficiência de biotinidase (enzima responsável pelo metabolismo da biotina). Alguns desses fatores, especialmente a deficiência de biotinidase que é um defeito inerente e irreversível do organismo, se faz necessária a reposição dessa vitamina por via oral (ZEMPLINI et al., 2008).

O presente estudo se baseou em duas formas farmacêuticas pouco comuns na rotina das farmácias magistrais: pirulito e geleia. Essas duas fórmulas foram desenvolvidas pensando em estimular a adesão ao tratamento dos pacientes que fariam uso da biotina diariamente, uma vez que são de fácil deglutição (importante para crianças e pacientes idosos), com sabor agradável e práticas para o consumo.

A partir dos resultados obtidos de uma análise sensorial, é possível identificar quais características do produto em questão são importantes para a maioria dos consumidores

e, baseando-se nisso, elaborar uma fórmula que atenda essas necessidades. Aplicando esses conceitos, foi elaborado um método para a análise sensorial do pirulito e geleia de biotina.

## **2 | MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Avaliação sensorial das amostras de geleia e pirulito**

O questionário foi elaborado de acordo com os métodos físico-químicos para análise de alimentos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008, p.285-318) aceito pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Marília- UNIMAR sob o número do parecer 2.354.554.

Foi empregado teste de caráter discriminativo e afetivo com o objetivo de avaliar a aceitação dos produtos e realizar a comparação entre eles. Para a avaliação sensorial, foi utilizado apenas a base das fórmulas sem adição do fármaco, considerando que a dosagem usada é ínfima e não acarretará alterações no sabor e aparência das mesmas, quando adicionado.

Cinquenta (50) participantes julgadores não treinados, sendo 44 deles alunos do último ano do curso de Nutrição da UNIMAR e 6 alunos do último ano do curso de Farmácia da UNIMAR participaram da avaliação sensorial. Foram escolhidos tais discentes, pois esses profissionais serão prescritores de suplementos e os farmacêuticos desenvolvedores das mesmas.

## ANÁLISE SENSORIAL

Nome: \_\_\_\_\_ Curso: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

1. Você está recebendo duas amostras: uma de pirulito e outra de geleia. Avalie-as globalmente (quanto aos atributos: COR, TEXTURA, SABOR, APARENCIA E ACEITAÇÃO GLOBAL) segundo a escala hedônica abaixo.

- (9) Gostei extremamente
- (8) Gostei moderadamente
- (7) Gostei regularmente
- (6) Gostei ligeiramente
- (5) Não gostei, nem desgostei
- (4) Desgostei ligeiramente
- (3) Desgostei regularmente
- (2) Desgostei moderadamente
- (1) Desgostei extremamente

Geleia ( )

Pirulito ( )

2. Você está recebendo duas amostras: uma de pirulito e outra de geleia. Avalie as duas segundo a sua intenção de consumo, de acordo com a escala hedônica abaixo.

- (5) Certamente compraria
- (4) Provavelmente compraria
- (3) Talvez compraria, talvez não compraria
- (2) Provavelmente não compraria
- (1) Certamente não compraria

Geleia ( )

Pirulito ( )

3. Você está recebendo duas amostras: uma de pirulito e outra de geleia. Avalie-as de acordo com a sua preferência, identificando a amostra preferida com um círculo

Geleia

Pirulito

Quadro 1. Questionário para avaliação sensorial das amostras de geleia e pirulito.

### 3 | ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação sensorial foi executada por meio de questionários de aceitação e intenção de compra em escala hedônica (9 e 5 pontos respectivamente) e um de identificação da amostra preferida pelo avaliador alimentos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008, p.285-318).

As análises estatísticas foram realizadas no programa Excel. Optou-se pela representação gráfica, pois oferece uma visão imediata dos dados, de forma simples e clara.

## 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através de análise estatística das respostas obtidas, observamos, em questão de aceitação das amostras, que a geleia foi bem aceita entre os alunos, sendo avaliada por 36% deles com a nota 9 (“gostei extremamente”) e por 28% com a nota 8 (“gostei moderadamente”). Por conseguinte, as notas mais citadas foram a 7 (“gostei regularmente”) e a 5 (“não gostei nem desgostei”), angariando 10% cada uma. Os pontos menos mencionados foram o 3 (“desgostei regularmente”) e o 2 (“desgostei moderadamente”), recebendo nenhum voto. O pirulito foi bem recebido, sendo as suas duas maiores notas a 9 (“gostei extremamente”) e a 8 (“gostei moderadamente”) com 16% e 40% respectivamente. O terceiro ponto mais votado foi o 7 (“gostei regularmente”) com 22%, confirmando a sua aprovação. O 5 foi o ponto menos citado, com apenas 2%.

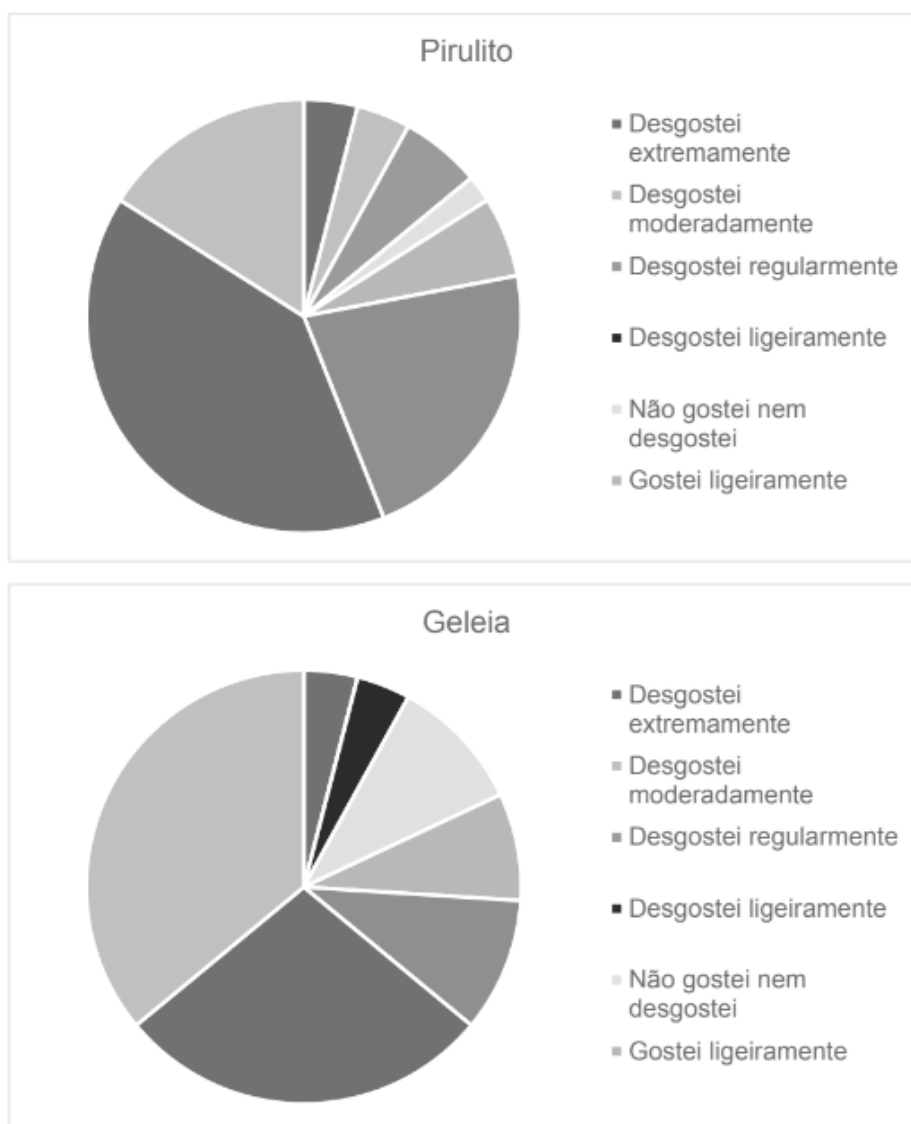


Gráfico 1 e 2 – Aceitação das Formulações.

O gráfico de intenção de consumo nos mostra que a geleia teve a nota 5 (“certamente compraria”) como mais votada, com 38%. A segunda nota mais avaliada foi

a 4 (“provavelmente compraria”) com 28%. Os pontos 1 (“certamente não compraria”) e 2 (“provavelmente não compraria”) foram os menos citados, com 6% e 4% respectivamente. O pirulito apresenta como o ponto mais votado o 4 (“provavelmente compraria”) com 40% seguido do 5 (“certamente compraria”) com 34%. A nota menos votada foi a 2 (“provavelmente não compraria”) e a 1 (“certamente não compraria”) com 8% e 6% respectivamente.

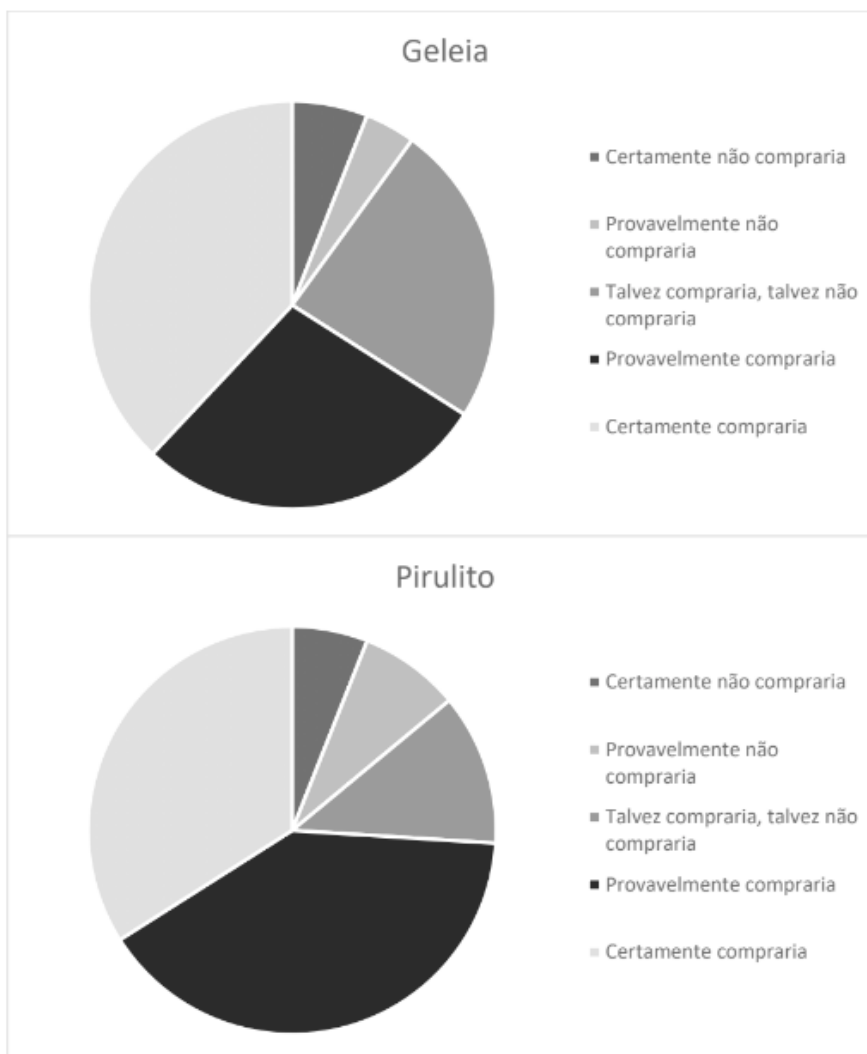


Gráfico 3 e 4- Intenção de Consum

Por fim, para a determinação da amostra preferida, os alunos circularam aquela que, em uma avaliação global de seus atributos, demonstrou ser a favorita. A geleia recebeu 52% dos votos contra 48% do pirulito, evidenciando coerência com os questionários anteriores, que contam com respostas bem divididas entres as duas amostras.



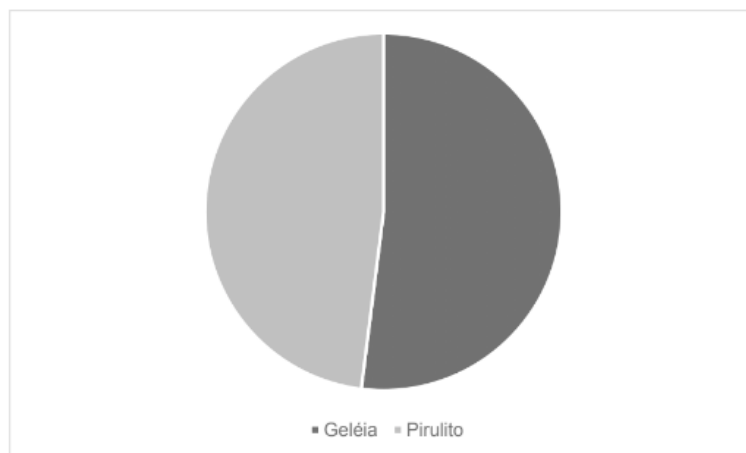


Gráfico 5 – Qual a preferência entre as formulações (%)

## 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

De maneira geral, podemos observar que ambas as amostras obtiveram boa aceitação entre os julgadores, tendo a geleia a maior quantidade de notas positivas (9 e 8), totalizando 64%. Analisando os resultados, podemos notar que o pirulito tem maior intenção de compra, totalizando 74% de respostas positivas (notas 5 e 4) contra 66% da geleia.

## REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, F. L. A. A., *et al.* Avaliação sensorial de pão de forma elaborado com soro de leite em pó. Disponível em: Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.13, n.1, p.37-47, 2011.
- GONÇALVES, G. S. Atributos da validação do método analítico para quantificação da Biotina empregando a técnica potenciométrica. Disponível em: <[http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/86497/goncalves\\_gs\\_me\\_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/86497/goncalves_gs_me_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Acesso em: 22.12.2016.
- HUI, Y. H. Handbook of food science, technology, and engineering. 4 ed. Boca Raton: CRC Press, 2005, p. 57-3.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- MELO E. A. *et al.* Formulação e Avaliação Físico-Química e Sensorial De Geléia Mista de Pitanga (*Eugenia Uniflora* L.) e Acerola (*Malpighia* Sp). Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/13799/9404>>. Acesso em: 09.09.2017.
- MUÑOZ, A. M. Sensory Evaluation In Quality Control. Nova York: Springer Science + Business Media, 1992, p. 14.
- TEIXEIRA, L.V. Análise sensorial na indústria de alimentos. Disponível em: <<https://www.revistadoilct.com.br/ri/ct/article/view/70/76>>. Acesso: 12.02.2017.
- ZEMPLENI J, *et al.* Biotin and biotinidase deficienc . Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2726758/pdf/nihms87517.pdf>>. Acesso em: 12.01.2017.

## ISOLAMENTO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS ORIUNDAS DE ESPÉCIES DE PIPER DA PARAÍBA ESTUDO FITOQUÍMICO DE *PIPER MOLLICOMUM* KUNTH (PIPERACEAE)

Data de aceite: 05/06/2020

Data de submissão: 06/03/2020

### **Fernando Ferreira Leite**

Universidade Federal da Paraíba  
João Pessoa – PB

<http://lattes.cnpq.br/9048354389852457>

### **Bárbara Viviana de Oliveira Santos**

Universidade Federal da Paraíba  
João Pessoa – PB

<http://lattes.cnpq.br/5648456118559210>

### **Maria de Fátima Vanderlei de Souza**

Universidade Federal da Paraíba  
João Pessoa – PB

<http://lattes.cnpq.br/6609504592713876>

### **Maria de Fátima Agra**

Universidade Federal da Paraíba  
João Pessoa – PB

<http://lattes.cnpq.br/1731384409714042>

### **Hilzeth de Luna Freire Pessôa**

Universidade Federal da Paraíba  
João Pessoa – PB

<http://lattes.cnpq.br/8141500406366011>

**RESUMO:** O gênero *Piper* é considerado o maior da família Piperaceae. Com mais de 2000 espécies já descritas, é encontrado principalmente em regiões tropicais e

neotropicais. Possui um alto valor comercial pelo seu amplo uso tanto na medicina popular como na culinária tradicional, se tornando alvo de diversas pesquisas. Possuem um metabolismo diferenciado, produzindo classes de substâncias que não são usualmente encontradas como alcaloides aristolactamas, alcaloides aporfínicos e kavalactonas, aumentando ainda mais seu potencial terapêutico. Dentre as espécies do gênero *Piper* encontra-se a *Piper mollicomum* Kunth, conhecida popularmente como jaborandi ou jaborandi-manso e nesse trabalho, investigações químicas foram realizadas com suas raízes que foram coletadas no campus I da Universidade Federal da Paraíba, município de João Pessoa-PB. Os extratos metanólicos foram submetidos às cromatografias convencionais (adsorção-gel de sílica e XAD-2 e exclusão-gel de dextrana) resultando, após análises por métodos físicos (ponto de fusão) e espectrométricos (Espectrometria na região do Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , incluindo técnicas uni e bidimensionais), no isolamento e elucidação estrutural de uma amida isobutílica identificada como a 2-Propenamida, 3-(6-metoxi1,3-benzodioxol-5-il)-N-(2-metilpropil)-(2E). Testes para avaliar a atividade antimicrobiana dessa substância foram realizados tanto em bactérias

Gram-positivas (*Bacillus subtilis* CCT 0516; *Staphylococcus aureus* 47; *Staphylococcus aureus* ATCC8027; ); e Gram-negativas (*Escherichia coli* 13; *Escherichia coli* ATCC 2536; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 8027; *Pseudomonas aeruginosa* 102) no entanto não exibiu atividade antibacteriana nas linhagens testadas, visto que não houve inibição do crescimento das cepas Gram-positivas e Gram-negativas testadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Piperaceae, *Piper mollicomum* Kunth, alcaloides, atividade antibacteriana.

## ISOLATION OF BIOACTIVE MOLECULES FROM PIPER SPECIES OF PARAÍBA PHYTOCHEMICAL STUDY OF PIPER MOLLICOMUM KUNTH (PIPERACEAE)

**ABSTRACT:** The genus *Piper* is considered the largest in the family Piperaceae. With more than 2000 species already described, it is found mainly in tropical and neotropical regions. It has a high commercial value due to its wide use in both popular medicine and traditional cuisine, becoming the target of several researches. They have a differentiated metabolism, producing classes of substances that are not usually found as aristolactam alkaloids, aporphine alkaloids and kavalactones, further increasing their therapeutic potential. Among the species of the genus *Piper* is the *Piper mollicomum* Kunth, popularly known as jaborandi or jaborandi-tame and in this work, chemical investigations were carried out with its roots that were collected on campus I of the Federal University of Paraíba, city of João Pessoa-PB. The methanolic extracts were subjected to conventional chromatography (adsorption-silica gel and XAD-2 and exclusion-dextran gel) resulting, after analysis by physical methods (melting point) and spectrometric (Spectrometry in the Infrared region and Nuclear Magnetic Resonance of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ , including one- and two-dimensional techniques), in the isolation and structural elucidation of an isobutyl amide identified as 2-Propenamido, 3- (6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-yl) -N- (2-metilpropil) - (2E). Tests to assess the antimicrobial activity of this substance were performed on both Gram-positive bacteria (*Bacillus Subtilis* CCT 0516; *Staphylococcus aureus* 47; *Staphylococcus aureus* ATCC8027;); and Gram-negative (*Escherichia coli* 13; *Escherichia coli* ATCC 2536; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 8027; *Pseudomonas aeruginosa* 102) however did not exhibit antibacterial activity in the tested strains, since there was no inhibition of the growth of the tested Gram-negative and Gram-negative strains.

**KEYWORDS:** Piperaceae, *Piper mollicomum* Kunth, alcaloides, atividade antibacteriana.

## 1 | INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do mundo, se tornando uma fonte promissora de compostos quimicamente bioativos que podem atuar contra as enfermidades, (NOLDIN et al., 2006). A grande importância medicinal, econômica e ecológica de espécies nativas brasileiras, assim como o risco de sua extinção pela interferência humana no seu

habitat, vem motivando estudos destas plantas que visam seu melhor aproveitamento, uso racional e acima de tudo sua preservação. Uma vasta diversidade de plantas ainda desconhecidas na pesquisa, podem possuir atividades farmacológicas valiosas se tornando alvo para descoberta de novas moléculas promissoras na terapêutica (SOUZA et al., 2005).

A Química de Produtos Naturais vem despertando o interesse da indústria farmacêutica, uma vez que serve de modelo para produtos sintéticos derivados desses metabólitos secundários, devido sua vasta variedade em estruturas químicas (VIEGAS e BOLZANI, 2006). A exemplo disso podemos citar o pioneiro dos medicamentos sintéticos, o Ácido Acetilsalicílico (ASS), sendo lançado ao mercado em 1897, onde sua síntese se deu a partir do salicilato, obtido inicialmente da *Salix alba*, cujo seu extrato veio se tornar fitoterápico (Florien) possuindo propriedades analgésicas, antipiréticas e anti-inflamatória (NASCIMENTO, et al., 2009).

Dentre as espécies do reino vegetal, podemos destacar as do gênero *Piper*, que abrange aproximadamente 2000 espécies já relatadas (SOUTO, 2014) distribuídas principalmente nas regiões neotropicais na Ásia e na América (**Figura 1**) (DYER, PALMER, 2004; JARAMILLO, et al., 2008), este gênero apresenta um metabolismo diferenciado, produzindo classes de compostos que não são usualmente encontrados, como alcaloides e aristolactamas, aumentando sua importância da área da fitoquímica. As espécies de *Piper* possuem uma grande diversidade de ação na área farmacológica, que incluem: atividade antifúngica de piperamidas (SILVA, et al., 2018), atividade antimicrobiana do extrato metanólico de *Piper crocatum* (LISTER, et al., 2014), atividade trypanocida de *Piper arboreum* e *Piper tuberculatum* (REGASINI, et al., 2009; COTINGUIBA, et al., 2009), atividade antibacteriana moderada dos óleos essenciais extraídos das folhas de *Piper mollicomum* (GUIMARÃES & VALENTE 2001), citotoxicidade de piperamidas frente ao *Aedes aegypti* (MALECK, 2014), derivados de ácido benzoico e flavokawains de espécies de *Piper* como controle vetorial de esquistossomose (RAPADO, 2014), atividade leishmanicida de alkenylphenol de *Piper malacophyllum* (OLIVEIRA, et al., 2012), capacidade antioxidante do óleo essencial do extrato de *Piper krukoffii* (SILVA, et al., 2011) e ação antifúngica com derivados obtidos de *Piper mollicomum* e *Piper lhotzkyanum* (LAGO, et al., 2007).



Figura 1: Distribuição geográfica de espécies de *Piper*.

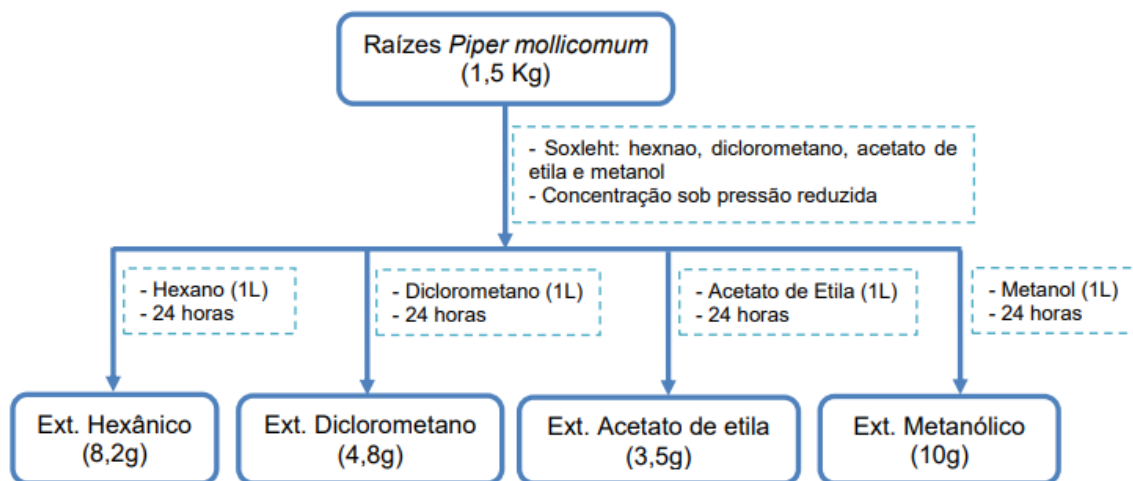
Fonte: CHRIST, 2016.

Tendo em vista a importância desses compostos na terapêutica como promissores candidatos a fármacos, o crescente aumento de pessoas acometidas por doenças, e com o metabolismo especial apresentado pelo gênero *Piper*, visamos a busca pelo conhecimento aprofundado das espécies deste gênero, assim como a investigação de moléculas oriundas desse metabolismo para o tratamento de enfermidades que acometem os humanos.

## 2 | METODOLOGIA

O material vegetal das raízes de *Piper mollicomum* KUNTH foi coletado no horto da Universidade Federal da Paraíba, campus I, João Pessoa – PB, em outubro de 2016. A identificação botânica da espécie foi realizada pela professora Dra. Maria de Fátima Agra e uma exsicata depositada no herbário Prof. Lauro Pires Xavier (CCEN/UFPB) sob o número *MFAGRA 7228* (JPB).

Após a coleta das raízes de *Piper mollicomum*, o material vegetal foi submetido a um processo de desidratação em estufa de ar circulante a uma temperatura de aproximadamente 40°C por um período de 72 horas, sendo submetida posteriormente a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se assim um pó fino (1500 g). Em seguida o pó foi submetido a um processo de extração em soxhlet utilizando como líquido extrator hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol respectivamente, até completa exaustão do material. Os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo sob pressão reduzida acoplado ao banho maria, cuja temperatura não excedeu os 40 °C, obtendo-se seus respectivos extratos: hexânico, diclorometano, acetato de etila e metanólico (**Esquema 1**).

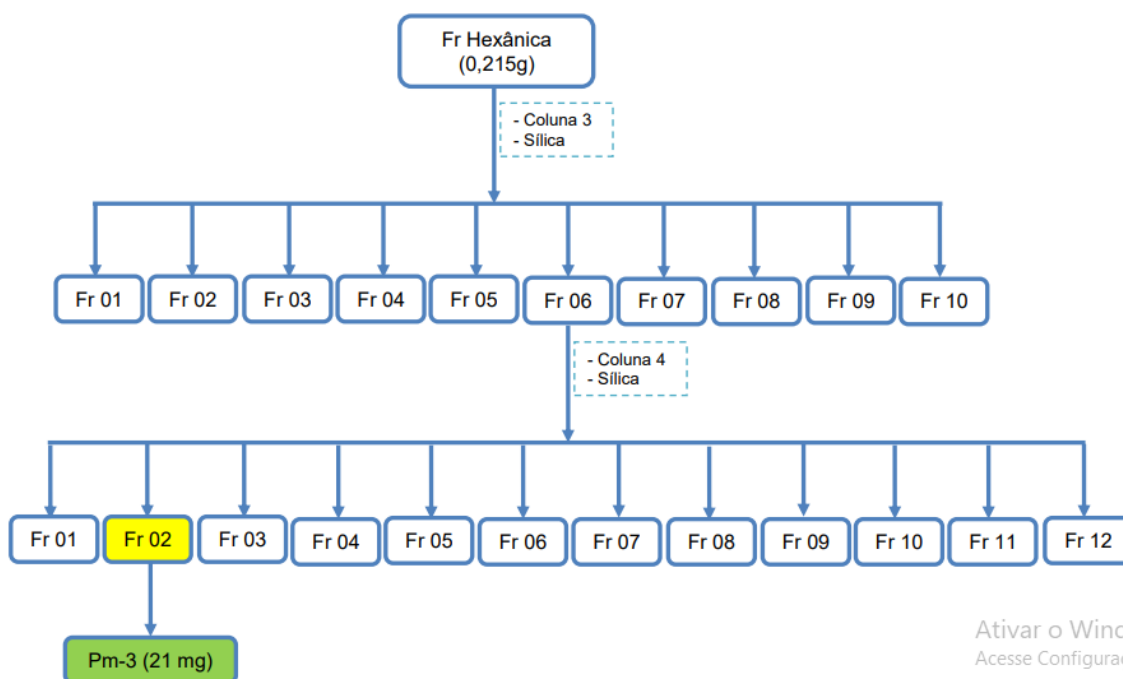


Esquema 1: Obtenção dos extratos e processos de extração.

Fonte: Leite, 2016.

Isolamento da substância codificada com Pm-

Do extrato hexânico foram separadas 2 g (, Esquema 1) e submetida a uma cromatografia em coluna com sílica gel 60 (Merck) (partículas com 0,04-0,063 nm, 230-400 mesh) como fase estacionária e Hexano e Acetato de Etila em solução com ordem crescente de polaridade. Foram obtidas 26 frações das quais foram reunidas segundo semelhança em análise com CCDA. A Fr 2 foi submetida novamente a uma cromatografia em coluna com sílica gel repetindo o mesmo procedimento descrito acima, onde foram obtidas 32 frações, onde a Fr 2 apresentou um bom grau de pureza, sendo encaminhada para as análises espectroscópicas sob o código Pm-3 (Esquema 2).



Esquema 2: Fracionamento cromatográfico da fração Hexânica

Fonte: Leite, 2016.

Pm-3 se apresentou na forma de cristais incolores com formato de agulha, com um ponto de fusão entre 147,1 - 153,4 °C, sendo completamente solúvel em diclorometano.

Para a elucidação da estrutura química de Pm-3 foram realizados espectros de Infra Vermelho e Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

IV (KBr,  $n_{\text{MAX}}$ ): 3458  $\text{cm}^{-1}$ ; 3303  $\text{cm}^{-1}$ ; 3100  $\text{cm}^{-1}$ ; 2959  $\text{cm}^{-1}$ ; 2865  $\text{cm}^{-1}$ ; 1638  $\text{cm}^{-1}$ ; 1591  $\text{cm}^{-1}$ , 1505  $\text{cm}^{-1}$ ; 1396  $\text{cm}^{-1}$ ; 1038  $\text{cm}^{-1}$ ; 878  $\text{cm}^{-1}$  e 655  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  6,95 (s, 1H);  $\delta_{\text{H}}$  6,52 (s, 1H);  $\delta_{\text{H}}$  5,95 (s, 2H);  $\delta_{\text{H}}$  3,81 (s, 3H);  $\delta_{\text{H}}$  7,86 (d, 1H;  $J=15,7$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  6,31 (d, 1H;  $J=15,7$  Hz);  $\delta_{\text{H}}$  5,68 (s, 1H);  $\delta_{\text{H}}$  3,22 (m, 2H);  $\delta_{\text{H}}$  1,86 (m, 1H) e  $\delta_{\text{H}}$  0,95 (s, 6H).

$^{13}\text{C}$  RMN-BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{C}}$  166,94;  $\delta_{\text{C}}$  154,82;  $\delta_{\text{C}}$  150,01;  $\delta_{\text{C}}$  141,75;  $\delta_{\text{C}}$  135,91;  $\delta_{\text{C}}$  119,11;  $\delta_{\text{C}}$  116,64;  $\delta_{\text{C}}$  106,91;  $\delta_{\text{C}}$  101,75;  $\delta_{\text{C}}$  94,92;  $\delta_{\text{C}}$  56,96;  $\delta_{\text{C}}$  47,27;  $\delta_{\text{C}}$  29,92;  $\delta_{\text{C}}$  28,89;  $\delta_{\text{C}}$  20,39.

### 3 | DISCUSSÃO

O espectro de Infra Vermelho de Pm-3 obtido em pastilhas de KBr, apresentou absorções nas regiões de 3458  $\text{cm}^{-1}$  e 3303  $\text{cm}^{-1}$  característico de estiramento de amida secundária, diferindo das substâncias descritas anteriormente, seguido de absorções na região entre 2959  $\text{cm}^{-1}$  a 2865  $\text{cm}^{-1}$  característico de estiramento C-H de carbono  $\text{sp}^3$  e absorções entre 3100  $\text{cm}^{-1}$  e 3000  $\text{cm}^{-1}$  característico de estiramento de carbono do tipo  $\text{sp}^2$ . Na região de 1638  $\text{cm}^{-1}$  notamos uma absorção característica de estiramento de carbonila de amida secundária, seguido de absorções em 1591  $\text{cm}^{-1}$ , 1505  $\text{cm}^{-1}$  e 1396  $\text{cm}^{-1}$  indicando estiramento C=C de anel aromático. Em 1525  $\text{cm}^{-1}$  temos uma banda harmônico relacionada ao dobramento N-H indicando uma ressonância de Fermi. Na região de 1038  $\text{cm}^{-1}$  temos uma absorção característico de estiramento do tipo C-O de éter fenilalquílico. Ainda se observa um grande número de absorções fora do plano entre as regiões 878  $\text{cm}^{-1}$  e 655  $\text{cm}^{-1}$  indicando um alto padrão de substituição no anel aromático.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtido com clorofórmio deuterado em uma frequência de 500 MHz ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz) mostrou sinais de hidrogênios aromáticos em:  $\delta_{\text{H}}$  6,95 (s, 1H);  $\delta_{\text{H}}$  6,52 (s, 1H). Podemos observar também a presença de 1 sinal em:  $\delta_{\text{H}}$  5,95 (s, 2H) sugerindo a presença de um grupamento metileno dióxido e 1 sinal em:  $\delta_{\text{H}}$  3,81 característico de metoxila, indicando a presença de um anel aromático tetrassubstituído. O espectro ainda apresentou 2 dubletos em:  $\delta_{\text{H}}$  7,86 (d, 1H;  $J=15,7$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  6,31 (d, 1H;  $J=15,7$  Hz) característicos de acoplamento do tipo trans, além de 1 sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,68 (s, 1H) e 3 sinais em  $\delta_{\text{H}}$  3,22 (m, 2H);  $\delta_{\text{H}}$  1,86 (m, 1H) e  $\delta_{\text{H}}$  0,95 (s, 6H) sugestivo de um grupo isobutil ligado a amida secundária.



O espectro bidimensional homonuclear  $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz), mostrou as correlações entre os sinais:  $\delta_{\text{H}} 7,86/\delta_{\text{H}} 6,28$ ;  $\delta_{\text{H}} 3,22/\delta_{\text{H}} 1,86$  e  $\delta_{\text{H}} 1,81/\delta_{\text{H}} 0,95$ , sugerindo uma insaturação na conformação TRANS e de um grupamento isobutílico presente na estrutura (**Tabela 1**). O espectro ainda apresenta uma correlação entre os sinais  $\delta_{\text{H}} 3,22/\delta_{\text{H}} 5,68$ , indicando que a substância pode se tratar de uma amida isobutílica. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) mostrou 14 sinais para 15 carbonos, sendo eles em:  $\delta_{\text{C}} 166,94$ ;  $\delta_{\text{C}} 154,82$ ;  $\delta_{\text{C}} 150,01$ ;  $\delta_{\text{C}} 141,75$ ;  $\delta_{\text{C}} 135,91$ ;  $\delta_{\text{C}} 119,11$ ;  $\delta_{\text{C}} 116,64$ ;  $\delta_{\text{C}} 106,91$ ;  $\delta_{\text{C}} 101,75$ ;  $\delta_{\text{C}} 94,92$ ;  $\delta_{\text{C}} 56,96$ ;  $\delta_{\text{C}} 47,27$ ;  $\delta_{\text{C}} 29,92$ ;  $\delta_{\text{C}} 28,89$ ;  $\delta_{\text{C}} 20,39$ .

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) mostrou 14 sinais para 15 carbonos, dos quais 5 são de carbonos não hidrogenados em  $\delta_{\text{C}} 166,94$ ;  $\delta_{\text{C}} 154,82$ ;  $\delta_{\text{C}} 150,01$ ;  $\delta_{\text{C}} 141,75$ ; e  $\delta_{\text{C}} 116,64$ ; 5 sinais para carbonos metínicos em  $\delta_{\text{C}} 135,92$ ;  $\delta_{\text{C}} 119,11$ ;  $\delta_{\text{C}} 106,92$ ;  $\delta_{\text{C}} 94,92$ ;  $\delta_{\text{C}} 28,90$ ; 2 sinais para carbonos metilênicos em  $\delta_{\text{C}} 101,75$  e  $\delta_{\text{C}} 47,27$  e 2 sinais para carbonos metílicos em  $\delta_{\text{C}} 56,68$  e  $\delta_{\text{C}} 20,40$ .

O espectro bidimensional heteronuclear  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSQC ( $\text{CDCl}_3$ , 500/125 MHz), mostrou as correlações entre  $\delta_{\text{H}} 3,22/\delta_{\text{C}} 47,27$ ;  $\delta_{\text{H}} 0,95/\delta_{\text{C}} 20,39$ ;  $\delta_{\text{H}} 1,86/\delta_{\text{C}} 28,89$ , que aliadas com as correlações apresentadas pelo espectro bidimensional heteronuclear  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HMBC( $\text{CDCl}_3$ , 500/125 MHz), entre  $\delta_{\text{H}} 3,22/\delta_{\text{C}} 20,39$ ;  $\delta_{\text{C}} 28,89$  e  $\delta_{\text{C}} 166,94$ ;  $\delta_{\text{H}} 1,86/\delta_{\text{C}} 47,27$  e  $\delta_{\text{C}} 20,39$ ;  $\delta_{\text{H}} 0,95/\delta_{\text{C}} 47,27$ ;  $\delta_{\text{C}} 28,89$  e  $\delta_{\text{C}} 20,39$ , confirmaram a presença de uma amida isobutílica na estrutura da molécula. Ainda no espectro  $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HSBC( $\text{CDCl}_3$ , 500/125 MHz), podemos notar as correlações entre:  $\delta_{\text{H}} 7,86/\delta_{\text{C}} 135,91$ ;  $\delta_{\text{H}} 6,31/\delta_{\text{C}} 119,11$ ;  $\delta_{\text{H}} 6,95/\delta_{\text{C}} 106,91$ ;  $\delta_{\text{H}} 6,52/\delta_{\text{C}} 94,92$ ;  $\delta_{\text{H}} 5,95/\delta_{\text{C}} 101,75$ ; dos quais aliando aos dados das correlações presentes no HMBC entre:  $\delta_{\text{H}} 7,86/\delta_{\text{C}} 119,11$ ;  $\delta_{\text{C}} 106,91$ ;  $\delta_{\text{C}} 166,94$  e  $\delta_{\text{C}} 154,82$ ;  $\delta_{\text{H}} 6,28/\delta_{\text{C}} 135,91$ ;  $\delta_{\text{C}} 116,64$ ;  $\delta_{\text{C}}$  e  $\delta_{\text{C}} 166,94$ ;  $\delta_{\text{H}} 6,95/\delta_{\text{C}} 135,91$ , podemos confirmar a presença de uma insaturação do tipo  $\alpha$ - $\beta$  carbonila, assim como atribuir aos  $\delta_{\text{C}} 116,64$  e  $\delta_{\text{C}} 106,91$  as posições C-1 e C-6 do anel aromático respectivamente. Ainda com base no espectro HMBC com as correlações entre:  $\delta_{\text{H}} 3,81/\delta_{\text{C}} 154,82$  e  $\delta_{\text{H}} 5,95/\delta_{\text{C}} 150,01$  e  $\delta_{\text{C}} 141,75$ , podemos atribuir aos  $\delta_{\text{C}} 154,82$ ;  $\delta_{\text{C}} 150,01$  e  $\delta_{\text{C}} 141,75$ , as posições C2, C-5 e C-4 do anel aromático respectivamente. Com os dados obtidos dos espectros de Infra vermelho e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensionais em conjunto com os dados da literatura, nos permite sugerir que a substância codificada como Pm-3 trata-se da 2- Prompenamida, 3-(6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(2-metilpropil)-(2E), já isolada anteriormente na espécie *Piper mollicomum* Kunth (JARDIM, 2012) (Figura 2).

Posição	HSQC		HMBC		Modelo literário (CDCIs, 500 MHz)	
	$\delta_C$	$\delta_H$	$^2J$	$^3J$	$\delta_C$	$\delta_H$
1	116,64	-	-	-	116,52	-
2	154,82	-	-	-	154,59	-
3	94,92	6,52(s, 1H)	C-2; C-4	C-5; C-1	94,75	6,49(s, 1H)
4	141,75	-	-	-	141,56	-
5	150,01	-	-	-	149,76	-
6	106,91	6,95(s, 1H)	C-5	C-7; C-2; C-4	106,68	6,92(s, 1H)
7	135,91	7,86(d, 1H; J=15,7 Hz)	C-8	C-6; C-9; C-2	135,61	7,79(d, 1H; J=15,7 Hz)
8	119,11	6,31(d, 1H; J=15,7 Hz)	C-7; C-9	C-1	119,01	6,25(d, 1H; J=15,7 Hz)
9	166,94	-	-	-	166,65	-
2-OMe	56,69	3,81(s, 3H)	-	C-2	56,48	3,79(s, 3H)
1'	47,27	3,22(t, 2H)	C-2'	C-4'; C-3'; C-9	47,02	3,18(t, 2H)
2'	28,89	1,86(sep, 1H)	C-1'; C-12; C13	-	28,68	1,81(sep, 1H)
Me-3' e 4'	20,39	0,95(d, 6H)	C-2'	C-1'	20,15	0,92(d, 6H)
N-H	-	5,68(s, 1H)	-	-	-	5,65(s, 1H)
CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	101,75	5,95(s, 1H)	-	C-5, C-4	101,50	5,91(s, 1H)

Tabela 1: Dados espectrais de Pm-3 com modelos literários.

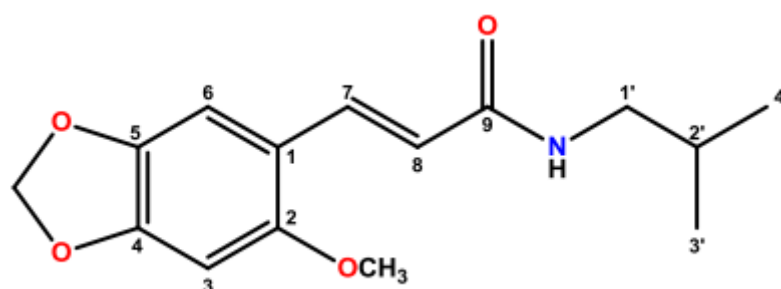


Figura 2: 2-Prompenamida, 3-(6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(2-metilpropil)-(2E).

Fonte: Leite, 2016.

A análise antibacteriana desses compostos mostrou que nenhuma das substâncias testadas foram capazes de inibir o crescimento das linhagens *de E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. mutans* padrão e de origem clínica até a concentração (300 µg/mL).

Ríos & Recio (2005) colocam que devem ser evitados testes de avaliação de atividade antibiótica com concentrações superiores a 1000 µg/mL para extratos ou 100 µg/mL para substâncias isoladas, sendo consideradas interessantes a detecção deste potencial em concentrações abaixo de 100 µg/mL para extratos e 10 µg/mL para princípios ativos, respectivamente, deixando-se de atribuir atividade positiva para diluições ou concentrações excessivamente altas.

Os ensaios biológicos foram realizados no LabETox (Laboratório de Ensaio Toxicológicos Clínicos e Não-clínicos) localizado no IPeFarM, sob co-orientação da Profa. Dra. Hilzeth de Luna Freire Pessoa.

Para a realização dos testes antibacterianos preparou-se uma solução com 10 mg/mL da substância utilizando-se uma solução de DMSO 5% e Tween® em água destilada. Foram avaliadas tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas oriundas da American Type Culture Collection (ATCC), Coleção de Culturas Tropicais (CCT) e de origem clínica, sendo elas:

- *Bacillus subtilis* CCT 0516
- *Escherichia coli* 13
- *Escherichia coli* ATCC 2536
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 8027
- *Pseudomonas aeruginosa* 102
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25925
- *Staphylococcus aureus* 47
- *Streptococcus mutans* ATCC 25175

As bactérias foram inoculadas em meio de cultura estéril e incubados a 37 °C durante 24 h. A suspensão bacteriana para a realização dos testes foi ajustada de acordo com o padrão 0,5 da escala de McFarland, contendo 1-5 x 10<sup>8</sup> UFC/mL (HADACEK; GREGER, 2000).

A determinação da CIM foi realizada por meio da técnica de microdiluição, utilizando-se placas de 96 poços para cada uma das cepas testadas, conforme descrito por Gerhardt et al. (1994). Foi realizada uma diluição seriada a metade, obtendo-se as concentrações finais de 300; 150; 75; 32,5; 16,2 e 8,1; 4,0 e 2,0 µg/mL para a substância testada. O volume foi completado com 100 µL da cultura bacteriana perfazendo o volume final de 200 µL.

As placas foram incubadas a 37°C por 24 h e a inibição do crescimento bacteriano foi confirmada com a adição de 20 µL de uma solução 0,01% (p/v) de resazurina sódica (SIGMA), um indicador colorimétrico de atividade metabólica. Foi considerada como CIM para os produtos testados a menor concentração que inibiu completamente o crescimento bacteriano sendo verificado pela manutenção da cor azul da resazurina. Os ensaios foram realizados em duplicata.

## 4 | CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das raízes de *Piper mollicomum* kunth, na busca de moléculas bioativas candidatas a fármacos e utilizando-se de técnicas cromatográficas usuais além de métodos espectroscópicos de IV e RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C uni e bidimensionais, foi possível isolar e identificar uma alcalóide, sendo ela a amida isobutílica 2-Prompenamida, 3-(6-metoxi-1,3-benzodioxol-5-il)-N-(2-metilpropil)-(2E). Esta substância já foi relatada anteriormente em um estudo realizado por (Jardim, 2012).

## REFERÊNCIAS

CHRIST, JHENIFFER ABELDT, **Diversidade morfológica e molecular em *Piper* (Piperaceae) em um fragmento de Floresta Atlântica**, dissertação de mestrado, UFES - ES, 2016.

Cotinguiba, F., Regasini, L. O., da Silva Bolzani, V., Deboni, H. M., Passerini, G. D., Cicarelli, R. M. B., ... & Furlan, M. (2009). Piperamides and their derivatives as potential anti-trypanosomal agents. **Medicinal**

**Chemistry Research**, 18(9), 703.

DYER, Lee A.; PALMER, Aparna DN (Ed.). *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution*. New York: **Kluwer academic/Plenum publishers**, 2004.

GERHARDT, P. editor-in-chief; MURRAY, R.G.E.; WOOD, W.A.; KRIEG, N.R. *Methods for general and molecular bacteriology*, Washington. **American Society for Microbiology**, p. 791,1994.

Guimarães, E.F. & Valente, M.C. 2001. Piperaceae - *Piper*. In: R. Reitz (ed.). **Flora Ilustrada Catarinense**, Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v. 11, p. 137-147, 2000.

JARAMILLO, M. Alejandra et al. **A phylogeny of the tropical genus Piper using ITS and the chloroplast intron psbJ–petA**. **Systematic Botany**, v. 33, n. 4, p. 647-660, 2008.

JARDIM, J. U. G. **Estudo fitoquímico das raízes de *Piper mollicomum* Kunth**. 2012.174 f. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

LAGO, João Henrique G. et al. Antifungal derivatives from *Piper mollicomum* and *P. lhotzkyanum* (Piperaceae). **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1222-1224, 2007.

LEITE, F.F., **ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Piper mollicomum* KUNTH E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**, dissertação de mestrado, UFPB, João Pessoa – PB, 2016.

LISTER, I. N. E. et al. Antimicrobial activities of methanol extract of Sirih Merah (*Piper crocatum* L.) lleaf. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 12, p. 650-654, 2014.

Maleck, M., Ferreira, B., Mallet, J., Guimarães, A., & Kato, M. (2014). Cytotoxicity of piperamides towards *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of medical entomology**, 51(2), 458-463.

NASCIMENTO, Demétrius F, et al. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico contendo *Passiflora incarnata* L., *Crataegus oxyacantha* L., *Salix alba* L. em voluntários saudáveis. **Rev. Bras. Farmacognosia**. Vol. 19 n 1b João Pessoa Jan/Mar 2009.

NOLDIN, Vânia Floriani; ISAIAS, Daniela Buffon; CECHINEL-FILHO, Valdir. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 549-554, 2006.

Oliveira, A., Mesquita, J. T., Tempone, A. G., Lago, J. H. G., Guimarães, E. F., & Kato, M. J. (2012). Leishmanicidal activity of an alkenylphenol from *Piper malacophyllum* is related to plasma membrane disruption. **Experimental parasitology**, 132(3), 383-387.

Rapado, L. N., Freitas, G. C., Polpo, A., Rojas-Cardozo, M., Rincón, J. V., Scotti, M. T., ... & Yamaguchi, L. F. (2014). A benzoic acid derivative and flavokawains from *Piper* species as schistosomiasis vector controls. **Molecules**, 19(4), 5205-5218.

REGASINI, Luis Octávio et al. Trypanocidal activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 199-203, 2009.

RIOS, J.L.; RECIO, M.C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 80-84, 2005.

Silva, J. K. R., Andrade, E. H. A., Kato, M. J., Carreira, L. M. M., Guimaraes, E. F., & Maia, J. G. S. (2011). Antioxidant capacity and larvicidal and antifungal activities of essential oils and extracts from *Piper krukoffii*. **Natural Product Communications**, 6(9), 1934578X1100600936.

SILVA, Herlle Aparecido et al. Antifungal piperamides from *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae). **Eclética Química Journal**, v. 43, n. 1, p. 33-38, 2018.

SOUTO, Jéssica Romualdo. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos e frações de espécies de piper (Piperaceae) por bioautografia**. 2014.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática. **Nova Odessa**: Instituto Plantarum, 2005. 640 p.

Viegas Jr, C., Bolzani, V. D. S., & Barreiro, E. J. (2006). Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, 29(2), 326-337.

## BIODIVERSIDADE DA FLORA E O POTENCIAL PRODUTIVO DE PRÓPOLIS NO OESTE DE SANTA CATARINA

Data de aceite: 05/06/2020

Data de submissão: 15/05/2020

### Cleidiane Vedoy Ferraz

Graduanda do Curso de Farmácia, Universidade do Oeste Catarinense, SC, Brasil, cleidy.cleidyferraz@gmail.com

### Juciéli Chiamulera das Chagas

Graduanda do Curso de Farmácia, Universidade do Oeste Catarinense, SC, Brasil, jucieli.xxe@gmail.com

### Elisangela Bini Dorigon

Mestre em Ciências da Saúde Humana, Especialista em Botânica Geral e Fitossanidade, Bióloga, Docente na Unoesc-Xanxerê, Santa Catarina-Brasil, ellibini@yahoo.com.br

**RESUMO:** A própolis é um produto apícola, composto por substâncias coletadas pelas abelhas em ápices vegetativos e exsudatos resinosos de plantas, produzidos principalmente na casca e em gemas prestes a florescer. É usada principalmente para vedar a colmeia e evitar a entrada de invasores naturais, além de manter a temperatura e assepsia. O objetivo da pesquisa foi verificar a biodiversidade da flora e o potencial produtivo de própolis no oeste de Santa Catarina. A pesquisa foi realizada no município de Ponte Serrada no ano de

2018, entre os meses de janeiro a novembro. O inventário ocorreu em 180 hectares aproximadamente, onde foi considerado um raio de 3 000 metros no entorno de apiários. A análise fitossociológica ocorreu em parcelas aleatórias e amostragem homogênea. Os resultados obtidos identificaram 2036 plantas, 39 famílias e 75 espécies, o que demonstra grande diversidade florística, e que torna o oeste catarinense uma região potencialmente produtiva de própolis, principalmente devido a exploração do gênero *Eucalyptus sp.*

**PALAVRAS-CHAVE:** Apicultura. Exsudatos. Resinosos. Fitossociologia.

### FLORA BIODIVERSITY AND THE PROPOLIS PRODUCING POTENTIAL IN THE WEST OF SANTA CATARINA

**ABSTRACT:** Propolis is a bee product, composed of substances collected by bees in vegetative vegetables and plant residues, mainly by bark and in buds sold to bloom. It is mainly used to seal a hive and prevent the entry of natural invaders, in addition to maintaining temperature and asepsis. The objective of the research was to verify the biodiversity of the flora and the productive potential of propolis in the west of Santa Catarina. A survey was

conducted in the municipality of Ponte Serrada in 2018, between the months of January and November. The inventory took place on approximately 180 hectares, where a radius of 3,000 meters was considered around the apiaries. The phytosociological analysis occurred in random plots and homogeneous sampling. The results obtained identified 2036 plants, 39 families and 75 species, which shows great floristic diversity and what makes western Santa Catarina a potentially productive region of propolis, mainly due to the exploration of the genus *Eucalyptus sp.*

**KEYWORDS:** Beekeeping. Exudates. Resinous. Phytosociology

## 1 | INTRODUÇÃO

A própolis é um produto apícola, composto por substâncias coletadas pelas abelhas em ápices vegetativos e exsudatos resinosos de plantas, produzidos principalmente na casca e em gemas prestes a florescer. É usada para vedar a colmeia e evitar a entrada de invasores naturais, além de manter a temperatura e assepsia (ZEGGIO, 2016).

Desde os tempos remotos esse composto é utilizado para fins medicinais. Os egípcios empregavam a própolis para embalsamar cadáveres e evitar a decomposição dos corpos. Já os povos gregos e romanos utilizavam como antisséptico e cicatrizante (SILVA, 2014; SFORCIN, BANKOVA, 2011).

Segundo Oliveira e Andolfatto (2014), o produto brasileiro é muito valorizado, pois apresenta compostos típicos de regiões tropicais, conferindo as suas propriedades biológicas. A própolis brasileira destaca-se no cenário mundial, responsabilizando-se por aproximadamente 10% da produção, classificando-se em 13 tipos, que variam pela cor, composição e a consistência (ZEGGIO, 2016).

De acordo com Ribeiro (2011) os componentes existentes são complexos, dependem da biodiversidade de cada região e também do caminho que as abelhas percorrem na procura por alimento. Em geral, é composta por 50% de resina e bálsamo, aproximadamente 30% de cera, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% por outras substâncias (FERREIRA, NEGRI, 2018).

Conforme, Lustosa *et al.* (2008), a sua composição química inclui flavonóides, ácidos aromáticos, aldeídos, cetonas, terpenóides, fenilpropanóides, aminoácidos, vitaminas, polissacarídeos, ácidos graxos. Foram isolados mais de 200 compostos farmacológicos responsáveis por atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiinflamatória hepatoprotetora, antioxidante, antitumoral, imunomodulatória.

Nos últimos anos a própolis vem sendo utilizada em larga escala, com aplicações que abrangem desde a medicina popular até a indústria farmacêutica, como na fabricação de cápsulas, xaropes, extratos, comprimidos, em cosméticos, dermocosméticos, cremes, shampoos, soluções antissépticas, cicatrizante de feridas em pós-operatórios e no controle de hemorragias. No tratamento de úlceras, eczemas, infecções no trato urinário, infecções



no trato respiratório e também na indústria alimentícia para a produção de doces (PINTO, PRADO, CARVALHO, 2011; COSTA *et al.*, 2014).

Sendo assim, a própolis apresenta inúmeros compostos biologicamente ativos, responsáveis pelas propriedades farmacológicas ao organismo. Diante da grande importância econômica e científica, o presente trabalho tem como objetivo identificar a biodiversidade florística, verificando o potencial produtivo regional.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em propriedades do município de Ponte Serrada na região Oeste de Santa Catarina. A vegetação predominante é Floresta Ombrófila Mista e clima Mesotérmico úmido, com temperatura média anual de 17,3°C.

O método foi exploratório de campo, através do inventário florístico em uma área de apiários com 180 hectares. Realizou-se a coleta de dados em propriedades, onde os agricultores trabalham com a apicultura familiar. Foram coletados dados fitossociológicos como o nome comum e o nome científico, aferido o Diâmetro à Altura do Peito (DAP) das plantas e altura.

As coletas de dados foram realizadas a partir de parcelas aleatórias com uma amostragem homogênea. A área foi dividida em 2 quadrantes com 180 parcelas de (50m x 50m). Foram sorteadas 12 parcelas aleatoriamente, sendo 3 em cada quadrante onde foi montada a parcela de (25m X 25m) e identificado todos os espécimes da parcela. As árvores que apresentaram fuste a 1,30 m com DAP > 15 cm utilizou-se fita métrica para aferir, e a altura foi obtida a partir do método hipsômetro de Christen.

A flora identificada foi submetida à análise fitossociologia. Identificaram-se as famílias e espécies botânicas potencialmente usadas para produção de própolis, bem como as classificando em nativas e exóticas. Utilizando essas informações construiu-se um calendário de floração e brotação, identificando os meses ótimos para propolização.

Os dados obtidos foram explorados com auxílio das planilhas do Excel®, ANOVA, e para dados fitossociológicas avaliou-se a Frequência Relativa à qual registra quantas vezes ocorreu à presença de um indivíduo, o índice de diversidade de Shannon e o índice de Equabilidade de Pielou.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram amostradas 24 parcelas para identificação da biodiversidade vegetal, considerando as espécies herbáceas e arbustos. Identificou-se 2036 plantas, 39 famílias e 75 espécies. Dessas, 53% das espécies apresentaram potencial de propolização. Registrou-se também 171 plantas conhecidas pela literatura para a produção de própolis.

Na tabela 1, observa-se o percentual distribuídos de espécimes em cada família

selecionada como produtora.

	Anacardiaceae	Aracauraceae	Asteraceae	Euphorbiaceae	Lauraceae Fabaceae	
Espécimes	0,50%	3,50%	73%	5%	12%	6%
Espécies	4%	4%	25%	8%	21%	38%

Tabela 1. Percentual de espécimes e espécies por família

Fonte: Autoras (2020).

De acordo com World Health Organization (2015), a biodiversidade tem papel de grande importância no bem-estar e na saúde do homem. É a base do funcionamento dos ecossistemas e tem sido fonte para a descoberta de novos medicamentos e grandes avanços na medicina. Muitos fármacos foram descobertos através das plantas de forma empírica e atualmente são utilizados na clínica no tratamento, controle e prevenção de doenças. Os produtos desse sistema também são utilizados na indústria de cosméticos e alimentos.

A composição química das espécies é bastante variada, qualitativa e quantitativamente, inúmeros fatores estão relacionados para a formação dos princípios ativos das plantas como solo, temperatura, altitude, as estações climáticas (MARTINS, BORTOLUZZI, MANTOVANI, 2010).

A vegetação do estado de Santa Catarina apresenta ampla variedade, resultando em uma extensa biodiversidade com características peculiares em relação aos outros estados do país. Isso reflete na apicultura e na qualidade da própolis, pois as propriedades biológicas estão relacionadas com a presença de compostos biologicamente ativos, que variam de acordo com as plantas (ZEGGIO, 2016; MELO *et al.*, 2014).

Nesse contexto, os indivíduos estão classificados em 6 famílias botânicas: Asteraceae, Araucariaceae, Pinaceae, Myrtaceae, Rosaceae, Fabaceae, conforme tabela 1. Foram identificadas ainda 7 espécies: *Acacia bonariensis* (3,5%), *Acacia podalyriifolia* (1,7%), *Araucaria angustifolia* (22,8%), *Baccharis dracunculifolia* (2,23%), *Eriobotrya japonica* (7%), *Eucalyptus globulus* (41%), *Pinus taeda* (21,5%).

Dentre as espécies mais frequentes, muitas delas apresentam compostos químicos e metabólitos de grande importância na área da saúde e conseqüentemente na produção da própolis. De acordo com Andrade *et al.* (2003) o gênero *Acacia* apresenta diversos metabólitos secundários como às cumarinas, glicosídeos, taninos, alcalóides e flavonóide responsáveis pela atividade biológica e de interesse medicinal.

Conforme alguns relatos etnobotânicos, as tribos indígenas utilizam partes da planta Araucária (*Araucaria angustifolia*) como as cascas dos troncos, os nós e brotos para o tratamento de problemas respiratórios, digestivos e ação antisséptica em ferimentos. Da resina pode-se extrair compostos utilizados no tratamento de picadas de insetos e na indústria alguns subprodutos fornecem óleos essenciais (MARTINS, BORTOLUZZI,

MANTOVANI, 2010).

A *Baccharis dracunculifolia*, conhecida popularmente como alecrim-do-campo ou vassourinha, produz óleos essenciais que caracterizam o odor forte e exótico. As abelhas coletam o material dessa planta durante o seu crescimento, quando são produzidos alguns metabólitos que interagem com os insetos e predadores, garantindo a sua sobrevivência e que são benéficos para o organismo. É tradicionalmente utilizada de forma empírica no tratamento de distúrbios hepáticos e em processos inflamatórios. Além de apresentar propriedades antimicrobianas, atividade antiviral, ação imunomoduladora, antiparasitária, antimicrobiana, possuindo grande potencial farmacológico e terapêutico (SFORCIN *et al.*, 2012).

De acordo com Nascimento *et al.* (2008) a própolis verde produzida dos ápices vegetativos do alecrim-do-campo, é altamente valorizada no mercado internacional e movimenta um mercado milionário ao ano em decorrência das suas propriedades, tendo grande importância mundial.

Segundo Uto *et al.* (2013), a *Eriobotrya japonica*, nome popular *nêspera*, é amplamente utilizada na fitoterapia no tratamento de bronquite e tosse. A partir de extratos das folhas da planta foi possível isolar vários triterpenos, sendo que alguns possuem ações anti-inflamatórias, antitumorais e antidiabéticas. O extrato bruto das folhas inibe a produção de prostaglandinas E2 e óxido nítrico.

O *Eucalyptus globulus* conhecido popularmente como eucalipto, é amplamente distribuído na região sul do Brasil, apresenta em sua composição flavonóides, saponinas, triterpenos, compostos fenólicos, taninos e carboidratos. É utilizado na medicina popular no combate a gripes e resfriados, por meio da inalação em infusão ou decocto das folhas e cascas. Diversos estudos vêm sendo realizados *in vitro* e também *in vivo* para atestar as suas propriedades farmacológicas, nesses testes à planta demonstrou potencial antimicrobiano, atividade leishmanicida, antifúngica (cepas de *Candida albicans*), hipoglicemiante e antioxidante (BRASIL, 2015).

De acordo com a Embrapa (2008), o *Pinus taeda* é o preferido para a produção de celulose e papel, devido ao rápido crescimento, sendo cultivada em larga escala. Todas as espécies de pínus são resinosas, seja em maior ou menor grau.

Segundo Breyer, Breyer e Cella (2016) a produção da própolis tornou-se nos últimos anos uma importante fonte de renda para os apicultores, principalmente para o pequeno e médio produtor. As técnicas utilizadas são relativamente simples e de baixo custo, podendo-se obter um produto de boa qualidade. No entanto, a maioria das espécies ainda não foram identificadas com potencial produtivo, principalmente em regiões de grande diversidade. Sendo de extrema importância a identificação da vegetação como fonte de matéria-prima de boa qualidade para a produção.

Dentre as espécies avaliadas, 70% das identificadas como desejadas para a propolização são exóticas.

No gráfico 1 os exsudatos utilizados na produção, foram maiores nos meses de agosto a dezembro, somando 57% das espécies nesse período.

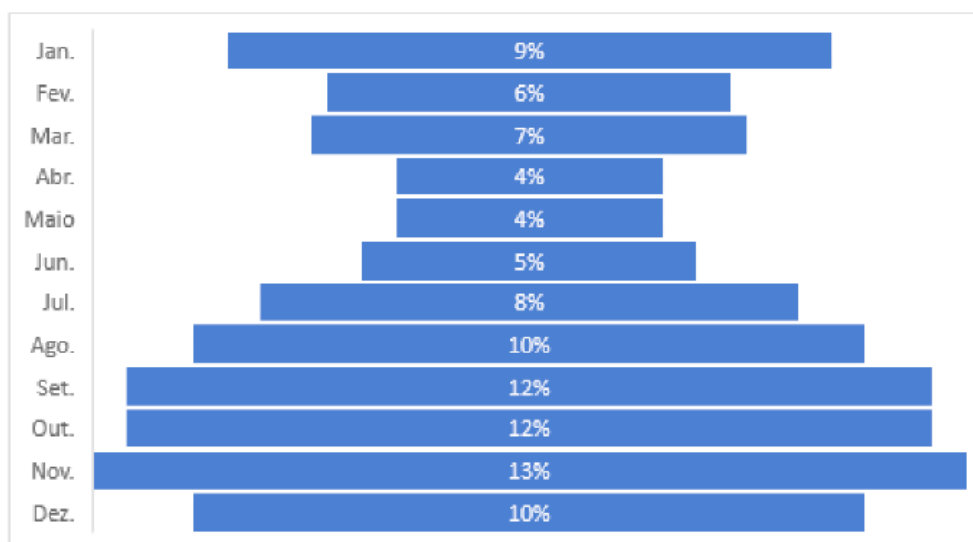


Gráfico 1. Distribuição por mês de espécies que produzem exsudatos resinosos

Fonte: Autoras (2020)

A frequência relativa obtida na pesquisa foi de aproximadamente 3,0 %. Com alta frequência da espécie *Araucaria angustifolia*.

Já a dominância relativa ficou de 0,1%, a dominância relativa é definida como a área basal total de uma determinada espécie por unidade de área, que geralmente é o hectare.

A média da densidade relativa encontrada foi de 2,94%, as espécies com maior densidade relativa foram a *Araucaria angustifolia*, seguida pelas espécies *Eucalyptus globulus*.

O índice de diversidade de Shannon e Wiener demonstram diversidade florística. Com um índice de 2,9 o que ficou dentro das expectativas, por se tratar de área onservada.

Para o índice de Equabilidade de Pielou foi observado o valor de 0,1, resultado da presença de um grande número de indivíduos de uma mesma espécie e aglomerados em uma região muito próxima sem haver uma distribuição homogênea das espécies. Dependendo da localização dos aglomerados de árvores pode ser bom para a apicultura, se apresenta floração em algum período no qual a menos floração, e produção de resinas.

#### 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A própolis tem apresentado grande destaque no cenário mundial devido as suas propriedades farmacológicas, sua utilização na indústria farmacêutica, alimentícia e em outras áreas vem crescendo bastante. Sendo assim, o conhecimento sobre a biodiversidade da flora é de suma importância na qualidade e também para a obtenção da própolis, pois

a maioria das espécies ainda não foram identificadas com potencial produtivo e são elas que fornecem as substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas na elaboração do produto.

No trabalho foi possível identificar no total 2036 espécimes, apresentando 39 famílias diferentes. Dentre elas 53% das espécies possuem potencial para a produção, pode-se concluir que o oeste catarinense apresenta grande diversidade florística para produção de própolis, sendo o *Eucalyptus globulus* o mais frequente e o segundo semestre do ano o mais produtivo.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, Claudia *et al.* **Revisão do gênero *Acacia* – Atividades biológicas e presença de fenóis derivados do núcleo flavânico.** Visão Acadêmica, Curitiba – PR, v. 4, n.1, p. 47-56, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde e Anvisa. **Monografia da espécie *Eucalyptus globulus* Labill (Eucalipto).** Brasília – DF, 2015.
- BREYER, H. F. E.; BREYER, E. D. H.; CELLA, I. **Produção e beneficiamento da própolis.** Florianópolis, SC: Epagri, 2016.
- COSTA, Aline Silva *et al.* **Levantamento dos estudos com a própolis produzida no estado da Bahia,** 2014.
- EMBRAPA. **Pínus na silvicultura brasileira.** Embrapa Florestas, ed. 1, Colombo – PR, 2008.
- FERREIRA, J. M.; NEGRI, G. **Composição química e atividade biológica das própolis brasileiras: verde e vermelha.** Revista ACTA Apícola Brasileira. v. 6, n.1, 2018.
- LUSTOSA, Sarah R. *et al.* **Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia.** Rev. bras. farmacogn. João Pessoa, v. 18, n. 3, p. 447-454, 2008
- MARTINS, D. R.; BORTOLUZZI, R. L. C.; MANTOVANI, A. **Plantas medicinais de um remascente de Floresta Ombrófila Mista Altomontana, Urupema, Santa Catarina, Brasil.** Rev. Brasileira de Plantas Mediciniais. Botucatu, v. 12, n. 3, 2010. Disponível em: <[https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722010000300016](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722010000300016)>. Acesso em: 13 maio 2020.
- MELO, Ariane Alexandre Machado de *et al.* **Capacidade antioxidante da própolis.** Pesq. Agropec. Trop. Goiânia, v. 44, n. 3, p. 341-348, 2014.
- NASCIMENTO, Evandro A. *et al.* **Um marcador químico de fácil detecção para a própolis de Alecrim-do-Campo (*Baccharis dracunculifolia*).** Revista brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 3, p. 379-386, 2008
- OLIVEIRA, Sheila Catarina de; ANDOLFATTO, Suelen. **Otimização do processo de extração de compostos bioativos da própolis produzida por abelhas geneticamente modificadas.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Industrial – Universidade Tecnológica do Paraná, Pato Branco, 2014.
- PINTO, L. M. A.; PRADO, N. R. T. do; CARVALHO, L. B. de. **Propriedades, usos e aplicações da própolis.** Revista Eletrônica de Farmácia. v. 4, p. 76 - 100, 2011
- RIBEIRO, Mayara Priscila. **Atividade Antimicrobiana do Extrato de própolis Vermelha Frente ao microrganismo *Staphylococcus aureu*.** Assis, 2011.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. **Propolis: is there a potential for the development of new drugs?**. Journal of Ethnopharmacology. Lausanne, v.133, n. 2, p. 253-260, 2011.

SFORCIN, José Maurício *et al.* **Baccharis dracunculifolia: uma das principais fontes vegetais da própolis brasileira**. São Paulo: editora Unesp, 2012.

SILVA, Telma Filipa Garcia da. **Variação da composição química e atividade antioxidante de própolis em função da época de colheita**. Universidade Nova de Lisboa, 2014.

UTO, Takihiro *et al.* **Anti-Proliferative Activities and Apoptosis Induction by Triterpenes Derived from Eriobotrya japonica in Human Leukemia Cell Lines**. International Journal of Molecular Sciences, v. 14, p. 4106-4120, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Connecting global priorities: biodiversity and human health: a state of knowledge review**. World Health Organization and Secretariat of the Convention on Biological Diversity, 2015.

ZEGGIO, A. R. S. **Própolis catarinense: influência da sazonalidade e da origem geográfica no perfil de metabólitos secundários**. Florianópolis-SC, 2016, 160p.

## INSIGHTS SOBRE OS POTENCIAIS BENEFÍCIOS DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE *FRAGARIA* *ANANASSA*

Data de aceite: 05/06/2020

Data da submissão: 25/04/2020

### **Josué Guilherme Lisbôa Moura**

Faculdade de Farmácia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8871364544401478>

### **Patricia Soeiro Petroski**

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0445375503359191>

### **Caroline Nascimento Bez**

Faculdade de Farmácia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5861069951571777>

### **Patrícia Weimer**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7199119376512351>

### **Taís da Silva Garcia**

Faculdade de Farmácia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8805099379480240>

### **Rochele Cassanta Rossi**

Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0627260486404735>

### **Letícia Lenz Sfair**

Faculdade de Farmácia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. CV Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1189986775662267>

**RESUMO:** O consumo do morango (*Fragaria* spp.) está relacionado com muitos benefícios à saúde, podendo ser evidenciada atividade na prevenção de diversas doenças ou quadros clínicos, como diabetes e obesidade. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi discutir os principais resultados recentes sobre os efeitos dos morangos sobre a saúde humana, levando em consideração estudos *in vitro* e *in vivo* das atividades dos metabólitos secundários do morango. O morango representa uma escolha saudável alimentar de acordo com o seu perfil nutricional, mas seus principais benefícios estão relacionados à presença de compostos bioativos, principalmente das classes das antocianinas e elagitaninos. Estudos *in vitro*, *in vivo* e até mesmo estudos observacionais atribuíram a estes compostos, atividades



anti-inflamatória e antioxidante. Ademais, o consumo de morango, marcado pelo alto teor desses compostos, auxilia na melhora de indicadores clínicos, como redução dos níveis de colesterol e lipoperoxidação. Desta forma, os frutos de morango e seus compostos bioativos demonstram grande relevância para o desenvolvimento de novos alimentos funcionais que contribuam na prevenção e melhora dos indicadores biológicos das doenças crônicas não transmissíveis.

**PALAVRAS-CHAVE:** Morango; Bagas; Nutracêuticos; Polifenóis; Antocianinas; Elagitaninos.

## INSIGHTS ABOUT THE POTENTIAL BENEFITS OF THE BIOACTIVE COMPOUNDS OF FRAGARIA ANANASSA

**ABSTRACT:** The consumption of strawberries (*Fragaria* spp.) is related to many health benefits, and activity in the prevention of various diseases or clinical conditions, such as diabetes and obesity, can be evidenced. Therefore, this work aimed to discuss the main recent results on the effects of strawberries on human health, taking into account studies *in vitro* and *in vivo* of the activities of the secondary metabolites of the strawberry. Strawberries represent a healthy food choice according to their nutritional profile, but their main benefits are related to the presence of bioactive compounds, mainly from the classes of anthocyanins and ellagitanins. *In vitro*, *in vivo* and even observational studies have attributed these compounds to anti-inflammatory and antioxidant activities. In addition, the consumption of strawberries, marked by the high content of these compounds, helps to improve clinical indicators, such as reduced cholesterol levels and lipoperoxidation. In this way, strawberry and their bioactive compounds demonstrate great relevance for the development of new functional foods that contribute to the prevention and improvement of biological indicators of chronic non-communicable diseases.

**KEYWORDS:** Strawberry; Berries; Nutraceuticals; Polyphenols; Anthocyanins; Elagitanines.

### 1 | INTRODUÇÃO

A incidência de doenças crônicas não-transmissíveis (DCNTs) diminuem quando se associa frutas e hortaliças na dieta, em quantidades consideráveis (NIMSE; PAL, 2015; WANG et al., 2014). Esse efeito é provavelmente decorrente da presença de uma série de compostos antioxidantes nas espécies vegetais, que agem neutralizando os radicais livres (oxidantes) expressos pelo componente inflamatório intrínseco das DCNTs (ZHANG et al., 2015). Neste contexto, entre os frutos que agregam benefícios antioxidantes, têm-se as bagas, com destaque para os morangos (*Fragaria* spp.), que inclui mais de 20 espécies e, um grande número de cultivares em virtude do desenvolvimento de novas variedades híbridas (GOVINDARAJULU; LISTON; ASHMAN, 2013). De um modo geral, são economicamente e comercialmente importantes, visto que são amplamente consumidos

frescos ou em formas processadas, tais como geleias e sucos. Essas características impulsionaram os estudos do ponto de vista agrônomo, genômico e nutricional dessa baga.

Além disso, entre os frutos tipo baga, são um dos mais populares do mundo, não somente pelo sabor, mas também devido à sua excepcional riqueza de nutrientes, por exemplo, ácido ascórbico e flavonoides (ZHU et al., 2015). Essa fruta apresenta uma composição fitoquímica rica em metabólitos secundários, que é variável de acordo com a variedade e cultivar (GIAMPIERI et al., 2012; GÜNDÜZ; ÖZDEMİR, 2014)

Os benefícios à saúde relacionados ao consumo de morango incluem seu papel na atividade anti-inflamatória (LIU; LIN, 2012; LIU et al., 2013) bem como um notável efeito antioxidante (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2014). Nos últimos anos, a evidência para outras bioatividades tem se tornado crescente (GIAMPIERI et al., 2012) e alguns estudos destacam suas atividades na prevenção do câncer (AIYER et al., 2012), diabetes (ZHU et al., 2015) e obesidade (ZUNINO et al., 2012). Ademais, há um expressivo número de publicações científicas sobre este tema e revisões que tragam um compilado de informações sobre os compostos bioativos, principalmente os metabólitos secundários, encontrados no morango e seus efeitos benéficos já constatados, podem servir como uma ferramenta auxiliar e orientar na tomada de decisão de novas pesquisas.

Assim, o objetivo desse trabalho foi discutir os principais resultados recentes sobre os efeitos do morango sobre a saúde humana, levando em consideração estudos *in vitro* e *in vivo* das atividades dos metabólitos secundários.

## 2 | METODOLOGIA

Foram utilizadas publicações científicas dos anos de 2011 a 2018, disponíveis nas bases de dados *Library of Medicine* (PubMed), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Lilacs-Bireme e Google Scholar. Os descritores utilizados foram: *strawberry*; *Fragaria x ananassa*; *strawberry* em associação com *phytochemistry*, *flavonoids* e *phenolic compounds*. Foram selecionados artigos experimentais e revisões que contemplavam estudos *in vivo* e *in vitro* de propriedades biológicas dos metabólitos secundários do morango, sendo adotados como critérios de exclusão artigos de validação analítica para análise fitoquímica ou estudos de caracterização química de extratos e seus derivados sem aplicação biológica.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o seu perfil nutricional, o morango representa uma escolha alimentar saudável. Em relação aos seus metabólitos primários, por exemplo, o teor de frutose pode contribuir na regulação da glicemia e, o teor de fibras contribui para o controle da

ingestão de calorias devido ao seu efeito saciante. Em menor grau, morangos são uma fonte de ácidos graxos essenciais saudáveis, visto que já foi demonstrado que o óleo de semente de morango é rico em ácidos graxos insaturados (aproximadamente 72% ácidos graxos poli-insaturados). Ainda há presença de carotenoides, tocoferóis e outras vitaminas lipossolúveis que já foram identificadas em morangos (GIAMPIERI et al., 2012).

Há um grande interesse nos morangos por causa do seu elevado teor de vitamina C que, associada a presença do ácido fólico desempenham uma função fisiológica importante e, enfatizam que o teor desses micronutrientes é superior nos frutos de morango, quando comparado a outros frutos (GIAMPIERI et al., 2012). Além disso, o morango, embora em menor escala, é uma fonte de várias outras vitaminas, como a tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, vitamina K e vitamina A. Também constituem uma fonte rica em manganês, iodo, magnésio, cobre, ferro e fósforo. Entretanto, seus principais benefícios à saúde humana estão relacionados à presença de compostos não nutritivos, denominados de metabólitos secundários, com maior ênfase para os polifenóis. Esta classe inclui uma gama de compostos, sendo os principais discutidos a seguir.

### 3.1 Antocianinas

As antocianinas são pigmentos importantes encontrados em muitas plantas e, combinados com carotenoides ou clorofilas, são responsáveis pela coloração vermelha, roxa e azul de algumas frutas, folhas e sementes. Nos morangos, já foram descritos mais de 25 pigmentos de antocianina. Além de suas propriedades corantes, as antocianinas contribuem para uma ampla gama de atividades biológicas, exibindo efeitos anticancerígenos, anti-inflamatórios, antioxidantes, farmacológicos e quimioprotetores (MIAO et al., 2016).

Como as antocianinas são um dos principais componentes bioativos dos morangos, os cientistas de alimentos conduziram análises abrangentes para quantificá-las e caracterizá-las. A via biossintética das antocianinas e dos flavonoides tem sido extensamente elucidada em morangos nos níveis bioquímico e molecular (SCHAART et al., 2013), também há enzimas estruturais, como por exemplo a antocianidina sintase (ANS), que proporcionam ao vegetal diferentes intermediários e diferentes classes de flavonoides (XU et al., 2014). Muitos estudos determinaram o teor total de antocianinas, relatando valores de 150 a 800 mg/kg de massa fresca, estando as variações interligadas aos fatores edafoclimáticos e variante (GIAMPIERI et al., 2012).

A pelargonidina-3-glicosídeo (Fig. 1) é a principal antocianina em morangos independente de fatores genéticos e ambientais, e a presença de cianidina-3-glicosídeo parece ser constante em morangos, embora apenas em menores proporções. Estruturalmente, as antocianinas são formadas por uma porção aglicona ligada a um açúcar, podendo apresentar ou não um grupamento ácido. Conforme ilustrado na Fig. 1,

o grupamento aglicona, pelargonidina, está marcado em preto e a porção glicosídica em azul. Embora a glicose pareça ser o açúcar substituído mais comum em antocianinas de morango, rutinose, arabinose e conjugados de ramnose foram encontrados em algumas cultivares de morangos (AABY et al., 2012).

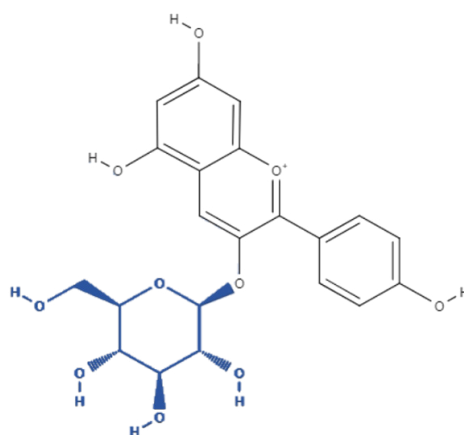


Figura 1 – Estrutura molecular da pelargonidina-3-glicosídeo

Estudos sobre a biodisponibilidade de antocianinas em humanos demonstram que estes compostos são absorvidos ~ 0,1% das quantidades consumidas, ou ainda menos. Foram detectadas na urina dentro de 24 horas de consumo, sendo detectadas concentrações inferiores no plasma. No estômago, o pH ácido mantém as antocianinas na forma estável de cátion, de modo que uma quantidade limitada pode ser rapidamente absorvida no estômago após a ingestão, através de um mecanismo que poderia implicar a bilitranslocase (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2014; DEL RIO et al., 2013; GIAMPIERI et al., 2012, 2013). As características químicas das antocianinas influenciam na absorção e excreção, provavelmente por ser uma molécula muito grande quando associada a uma porção de açúcar (*in natura*).

### 3.2 Elagitaninos

Os elagitaninos são combinações diferentes de ácido gálico e ácido hexa-hidroxi-difênico com glicose, com uma vasta gama de estruturas tais como monômeros (glicosídeos do ácido elágico), oligômeros (elagitanino mais típico no morango) e polímeros complexos. Juntamente com os galotanninos, são denominados taninos hidrolisáveis e, após a hidrólise, liberam ácido elágico.

Embora elagitaninos tenham sido frequentemente identificados como princípios ativos em plantas medicinais, o conteúdo e a composição desses compostos em alimentos foram caracterizados apenas recentemente. Há relatos que o conteúdo de elagitaninos em morangos varia entre 25 a 59 mg/100 g em amostras frescas (GIAMPIERI et al., 2012). Apesar dessas considerações, poucos estudos identificaram e quantificaram os elagitaninos, sendo que o mais representativo o *sanguin H-6* (SH-6) (Fig. 2).

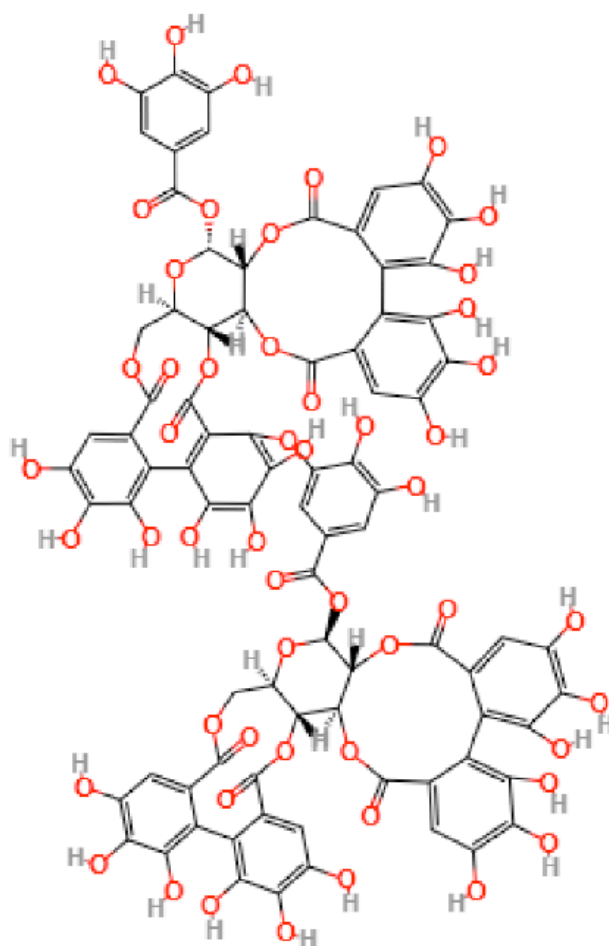


Figura 2 - Estrutura molecular do *sanguin H-6* (SH-6)

Um estudo investigou os efeitos do SH-6, na indução de apoptose e as vias de sinalização relacionadas em células de carcinoma ovariano humano (linhagem A2780). O SH-6 causou um efeito antiproliferativo e uma alteração morfológica severa semelhante à da morte celular por apoptose, mas não foram evidenciados efeitos na parada do ciclo celular. Além disso, o SH-6 induziu um efeito apoptótico precoce e ativação de caspases, bem como a clivagem de PARP - *Poly (ADP-ribose) Polymerase*, característica da apoptose. As porcentagens iniciais de apoptose de células expostas a 20 e 40  $\mu\text{M}$  de SH-6 foram de 35,39% e 41,76%, respectivamente. Além disso, o SH-6 causou a ativação de proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs), especialmente p38, que estimula a proliferação celular, desencadeando a mitose (LEE et al., 2016). Em sua estrutura, a molécula do SH-6 apresenta um grande número de anéis aromáticos e hidroxilas livres, sustentando a hipótese de sua alta capacidade antioxidante. Tendo em vista suas promissoras atividades e impacto positivo na saúde humana, mais estudos devem ser dedicados a este campo.

Dados farmacocinéticos dos elagitaninos provenientes da dieta são limitados, encontrando-se resultados somente após consumo de uma dose única de outras bagas, framboesas vermelhas e pretas. Um quadro complexo surgiu mostrando que elagitaninos

são absorvidos no jejuno, onde são hidrolisados em ácido elágico devido ao pH neutro fisiológico desta porção do trato gastrointestinal. O ácido elágico parece ser absorvido através da membrana apical do enterócito e rapidamente conjugado. Posteriormente, os metabólitos do ácido elágico passam por biotransformações hepáticas de fase II, produzindo um grupo específico de formas conjugadas, caracterizado pela rápida cinética do pico plasmático e excreção urinária, uma vez que tenham entrado na circulação. Dentro do lúmen intestinal, a maioria dos elagitaninos é submetida à transformação da microbiota, resultando na produção de derivados comumente conhecidos como urolitinas (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2014; DEL RIO et al., 2013; GIAMPIERI et al., 2012, 2013). Deve ser tomado em conta que diferentes estirpes de microrganismos compõem a microbiota, em diferentes indivíduos, que são responsáveis pela variabilidade interindividual consistente na produção *in vivo* desses metabólitos, o que torna o metabolismo dos elagitaninos um tema de alta complexidade.

### 3.3 Efeitos *in vitro* e *in vivo* de morango e seus metabólitos secundários: benefícios para a saúde humana

Como visto, os polifenóis estão entre os compostos bioativos mais importantes e conhecidos presentes nas frutas, especialmente bagas. Nos últimos anos, várias pesquisas foram realizadas para delinear a atividade biológica que estes compostos exercem na manutenção do bem-estar e na prevenção de uma enorme variedade de DCNTs e, até mesmo de componente autoimune. Embora as bagas sejam um dos alimentos mais ricos em antioxidantes, a potencial eficácia dos polifenóis está atualmente recebendo ampla atenção, a maioria dos dados da literatura científica ainda são obtidos de estudos *in vitro*. Nisso, uma das áreas de pesquisa mais interessantes se concentra nos efeitos *in vitro* desses compostos na saúde da pele.

A pele é sempre exposta a uma a uma diversidade de produtos químicos, genotóxicos, radiação e agentes ambientais que contribuem para o envelhecimento, doenças e carcinogênese (KAMMEYER; LUITEN, 2015). Uma ampla gama de polifenóis antioxidantes possuem efeitos cutâneos protetores e têm sido explorados como alternativa terapêutica tanto por via tópica, quanto por via sistêmica, considerando o mecanismo de absorção cutânea. (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2014). Resultados, *in vitro*, demonstraram o potencial efeito clareador da pele de extratos etanólicos de frutos imaturos e maduros de morango. Neste estudo, os extratos demonstraram inibir a melanogênese significativamente. A análise química destes extratos apontou para a presença de pelargonidina-3-glicosídeo, pelargonidina-3-rutinosídeo, epicatequina, quercetina, ácidos elágico e neoclorogênico (ZHU et al., 2015).

Giampieri e colaboradores (2013) analisaram a capacidade protetora *in vitro* de um extrato de morango rico em antocianinas sob fibroblastos dérmicos humanos expostos à radiação UVA. A radiação UVA penetra na derme causando danos oxidativos ao gerar



espécies reativas de oxigênio (ROS). Neste estudo, a incubação por 24 h com 0,5 mg/mL de extrato de morango levou a atividade fotoprotetora na linhagem celular avaliada (HuDe), comprovada pelo aumento da viabilidade celular e diminuição do dano ao DNA de forma dose-dependente, quando comparado ao controle células na ausência do extrato (GIAMPIERI et al., 2013). Outros pesquisadores, apontaram que 1 mg de quercitrina, uma forma glicosilada de quercitina, em células epidérmicas de camundongos diminuiu a geração de ROS induzida pela irradiação UVB e restaurou a expressão de catalase, levando a uma redução do dano oxidativo ao DNA, apoptose e proteção da pele contra inflamação (YIN et al., 2013). Estes resultados indicam que polifenóis podem ter efeitos protetores sobre as células dérmicas *in vitro*, sugerindo que potencialmente são úteis na proteção de células dérmicas humanas contra vários dos agentes tóxicos e comprimentos de radiação aos quais a pele é frequentemente exposta.

No entanto, ensaios *in vitro* são frequentemente realizados em condições experimentais não comparáveis com as situações *in vivo*. Com este ponto crítico tomado em conta, nos últimos anos vários estudos foram realizados out *in vivo*, em ambas as condições fisiológicas e patológicas, selecionando variedades de morangos particularmente ricas em compostos fenólicos, principalmente antocianinas.

A obesidade e o estresse oxidativo podem estar presentes em idades mais jovens e a exposição persistente à inflamação sistêmica pode resultar no surgimento e desenvolvimento de doença cardiovascular (DCV) (HUANG et al., 2015). Evidências sugerem que a adição de alimentos ricos em polifenóis na dieta pode melhorar os fatores de risco para DCV, inibindo inflamação e agregação plaquetária, melhorando a função endotelial, o perfil lipídico plasmático, aumentando a resistência à oxidação das LDL através da eliminação de radicais livres. O consumo regular de antocianina possui efeito dislipidêmico, observaram que em mulheres jovens ou de meia-idade (25 a 42 anos) a redução do risco de infarto do miocárdio estava associada à elevada ingestão de antocianinas (CASSIDY et al., 2013). Outro grupo mostrou que o consumo diário de 500 g de morangos por 1 mês em jovens saudáveis foi associado à melhora geral do perfil lipídico sérico dos indivíduos, através da redução dos níveis de colesterol total, LDL e triglicérides, indicando que alguns dos constituintes da fruta, como vitamina C e antocianinas, podem modificar favoravelmente o perfil lipídico plasmático (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2014). Já *in vitro*, extratos aquosos e etanólicos de frutos imaturos e maduros apresentaram significativa atividade antilipase e inibição da diferenciação de adipócitos (células murinas 3T3-L1), sugerindo assim o efeito antiobesidade desses frutos (ZHU et al., 2015). Portanto, de acordo esses resultados, os polifenóis parecem exercer efeitos *in vitro* e *in vivo* na prevenção do risco de DCV, explicando em parte o papel protetor de uma dieta abundante em vegetais e frutas na prevenção de doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas mediadas pelo estresse oxidativo.

Um ensaio preliminar com ratos alimentados com morangos, avaliou o possível papel



dos morangos na melhoria do processo de envelhecimento. Em geral, após 2 meses de consumo de 15% de morango na dieta, há uma redução do dano oxidativo fisiológico nos níveis tecidual, celular e subcelular, bem como um aumento nos biomarcadores antioxidantes e uma melhora no perfil lipídico. Uma dieta enriquecida com morangos também determinou a redução do estresse oxidativo nas mitocôndrias do fígado, melhorando a funcionalidade e o desempenho respiratório dos animais (GIAMPIERI; ALVAREZ-SUAREZ; BATTINO, 2014). Esses resultados estão de acordo com um experimento com em ratos idosos (40 semanas), onde foi demonstrado que a ingestão de polifenóis (75 mg/kg de peso corporal) resultou em diminuição da produção de ROS, aumento da defesa antioxidante e prevenção de danos mitocondriais relacionadas à idade (CHARLES et al., 2013). Em ambos estudos se utilizou doxorubicina para gerar números elevados de ROS e, obtiveram resultados que confirmam o possível benefício para a saúde de compostos bioativos *in vivo* contra o estresse oxidativo, também em condições fisiológicas caracterizadas por um maior nível de estresse oxidativo produzido pelo envelhecimento ou em situações patológicas causadas pela administração de agentes oxidantes.

Em relação aos estudos intervencionais em humanos existentes, destaca-se a suplementação com polifenol e as possíveis variações nos marcadores celulares e plasmáticos do status antioxidante em indivíduos jovens e de meia-idade. Em jovens saudáveis a capacidade antioxidante total e, a concentração de vitamina C no soro dos indivíduos, são significativamente aumentadas após o consumo de 300 g de morangos frescos (AZZINI et al., 2010). Adicionalmente, uma redução concomitante nos biomarcadores oxidativos tanto na urina como no plasma foi encontrada após o consumo de 500 g de morangos por 1 mês (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2014). Também foi avaliado o efeito geral de um consumo diário de morangos por 2 semanas, onde mostrou que além de um aumento moderado na capacidade antioxidante do plasma em jejum e na concentração sérica de vitamina C, ocorreu concomitantemente um aumento significativo na fase de retardo da oxidação dos lipídios plasmáticos e na resistência à hemólise oxidativa. Pela primeira vez, o aumento da ingestão de morangos por apenas duas semanas mostrou ser suficiente para atenuar a mortalidade de células mononucleares após a exposição *ex vivo* a um único estresse oxidativo agudo (TULIPANI et al., 2014). Estes resultados sugerem que um consumo regular de morangos pode melhorar as defesas do corpo contra os desafios oxidativos

Também *in vivo*, demonstraram que os polifenóis podem ter uma função preventiva contra o progresso de ulcerações gástricas, erosões e câncer estomacal. Um ensaio com ratos foi realizado para examinar os efeitos protetores e antioxidantes do morango em relação à lesão da mucosa gástrica induzida pelo etanol. O consumo de morango (40 mg/dia/kg) foi capaz de proteger contra o papel deletério do etanol, aumentar significativamente as atividades das enzimas antioxidantes e diminuir, ao mesmo tempo, a peroxidação lipídica gástrica. Além disso, a porcentagem de inibição do índice de úlcera

se correlacionou significativamente com o teor total de antocianinas (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2011). Similarmente, resultados apontam que a suplementação de diferentes quantidades de antocianinas (12,5, 25, 50, 100 ou 200 µg /mL) exerce um efeito anti-inflamatório nas células epiteliais gástricas infectadas por *Helicobacter pylori*, diminuindo a concentração de ROS e inibindo a fosforilação de proteínas quinases mitógeno-ativadas (KIM et al., 2013). Com base nessa evidência, o potencial dos polifenóis pode ser levado em conta na prevenção e no tratamento de lesões gástricas subagudas crônicas. A ingestão de uma dieta rica em compostos bioativos poderia prevenir ou então melhorar estados patológicos do estômago, bem como atenuar o dano da mucosa gástrica, cura ou diminuição da formação de úlceras, efeitos colaterais da ingestão subaguda crônica de álcool, gastrite não inflamatória relacionada a anti-inflamatórios.

Existe um possível papel positivo dos polifenóis nos transtornos metabólicos crônicos, onde podem conferir proteção antioxidante de forma indireta com a ativação de sistemas endógenos de defesa, principalmente com a modulação da expressão de algumas enzimas antioxidantes, esse fato pode explicar em parte o aumento de enzimas antioxidantes encontradas em estudos *in vivo*. (GIAMPIERI; ALVAREZ-SUAREZ; BATTINO, 2014). Na prevenção e no tratamento do câncer, os polifenóis também exercem papel importante, pois estendem suas propriedades além da antioxidação até a modulação da sinalização celular, o que fornece uma visão interessante de suas propriedades anticancerígenas em potencial. Várias investigações recentes também apoiaram sua função como moduladores de processos celulares relacionados com o crescimento do câncer: evidências *in vitro e in vivo* indicam que os fenólicos podem modular a sinalização celular na célula cancerosa inibindo a proliferação dessas células através da desmetilação de genes supressores de tumor, induzindo a parada do ciclo celular e apoptose e suprimindo a angiogênese tumoral (WANG et al., 2013).

#### 4 | CONCLUSÃO

Os frutos de morango possuem uma composição nutricional notável e amplo potencial terapêutico na prevenção de DCNTs por constituírem uma fonte rica em compostos fenólicos. Dentre estes, antocianinas e elagitaninos desempenham ação antioxidante importante, prevenindo e inibindo os danos causados às estruturas biológicas pelos radicais livres. No que tange as doenças crônicas associadas à obesidade, estes compostos atuam na promoção da saúde através da melhora de indicadores biológicos, como a redução da oxidação lipídica e níveis de colesterol, resultando no retardo do surgimento das doenças cardiovasculares, por exemplo.

Recentemente, ensaios pré-clínicos com modelo animal focadas em transmutar as evidências *in vitro* em resultados *in vivo*, estão aumentando. Os resultados podem ser ferramentas muito importantes para entender os mecanismos que regem a

biodisponibilidade de fitoquímicos de morango para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios funcionais que poderiam levar os consumidores a obter mais benefícios para a saúde com o consumo de morango.

## REFERÊNCIAS

- AABY, Kjersti et al. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 132, n. 1, p. 86–97, 2012.
- AIYER, Harini S. et al. Influence of berry polyphenols on receptor signaling and cell-death pathways: Implications for breast cancer prevention. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 23, p. 5693–5708, 2012.
- ALVAREZ-SUAREZ, José M. et al. Strawberry polyphenols attenuate ethanol-induced gastric lesions in rats by activation of antioxidant enzymes and attenuation of MDA increase. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 6, n. 10, 2011.
- ALVAREZ-SUAREZ, José M. et al. One-month strawberry-rich anthocyanin supplementation ameliorates cardiovascular risk, oxidative stress markers and platelet activation in humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 289–294, 2014.
- AZZINI, E. et al. Absorption of strawberry phytochemicals and antioxidant status changes in humans. **Journal of Berry Research**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 81–89, 2010.
- CASSIDY, Aedín et al. High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. **Circulation**, [s. l.], v. 127, n. 2, p. 188–196, 2013.
- CHARLES, Anne Laure et al. Polyphenols prevent ageing-related impairment in skeletal muscle mitochondrial function through decreased reactive oxygen species production. **Experimental Physiology**, [s. l.], v. 98, n. 2, p. 536–545, 2013.
- DEL RIO, Daniele et al. Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. **Antioxidants and Redox Signaling**, [s. l.], v. 18, n. 14, p. 1818–1892, 2013.
- GIAMPIERI, Francesca et al. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. **Nutrition**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 9–19, 2012.
- GIAMPIERI, Francesca et al. The potential impact of strawberry on human health. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 27, n. 4–5, p. 448–455, 2013.
- GIAMPIERI, Francesca; ALVAREZ-SUAREZ, José M.; BATTINO, Maurizio. Strawberry and human health: Effects beyond antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 62, n. 18, p. 3867–3876, 2014.
- GOVINDARAJULU, R.; LISTON, A.; ASHMAN, T. L. Sex-determining chromosomes and sexual dimorphism: Insights from genetic mapping of sex expression in a natural hybrid *Fragaria x ananassa* subsp. *cuneifolia*. **Heredity**, [s. l.], v. 110, n. 5, p. 430–438, 2013.
- GÜNDÜZ, Kazim; ÖZDEMİR, Emine. The effects of genotype and growing conditions on antioxidant capacity, phenolic compounds, organic acid and individual sugars of strawberry. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 155, p. 298–303, 2014.
- HUANG, Chun Jung et al. Obesity-related oxidative stress: the impact of physical activity and diet manipulation. **Sports Medicine - Open**, [s. l.], v. 1, n. 32, p. 1–12, 2015.

KAMMEYER, A.; LUITEN, R. M. Oxidation events and skin aging. **Ageing Research Reviews**, [s. l.], v. 21, p. 16–29, 2015.

KIM, Jung Min et al. Anthocyanins from black soybean inhibit *Helicobacter pylori*-induced inflammation in human gastric epithelial AGS cells. **Microbiology and Immunology**, [s. l.], v. 57, n. 5, p. 366–373, 2013.

LEE, Dahae et al. Inhibition of A2780 human ovarian carcinoma cell proliferation by a rubus component, sanguin H-6. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 64, n. 4, p. 801–805, 2016.

LIU, Chieh Jung; LIN, Jin Yuarn. Anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of strawberry and mulberry fruit polysaccharides on lipopolysaccharide-stimulated macrophages through modulating pro-/anti-inflammatory cytokines secretion and Bcl-2/Bak protein ratio. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 50, n. 9, p. 3032–3039, 2012.

LIU, Chuang et al. The association between road traffic noise exposure and blood pressure among children in Germany: The GINIplus and LISApplus studies. **Noise and Health**, [s. l.], v. 15, n. 64, p. 165–172, 2013.

MIAO, Lixiang et al. Colored light-quality selective plastic films affect anthocyanin content, enzyme activities, and the expression of flavonoid genes in strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruit. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 207, p. 93–100, 2016.

NIMSE, Satish Balasaheb; PAL, Dilipkumar. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**, [s. l.], v. 5, n. 35, p. 27986–28006, 2015.

SCHAART, Jan G. et al. Identification and characterization of MYB-bHLH-WD40 regulatory complexes controlling proanthocyanidin biosynthesis in strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits. **New Phytologist**, [s. l.], v. 197, n. 2, p. 454–467, 2013.

TULIPANI, Sara et al. Strawberry intake increases blood fluid, erythrocyte and mononuclear cell defenses against oxidative challenge. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 156, p. 87–93, 2014.

WANG, Li Shu et al. Black raspberry-derived anthocyanins demethylate tumor suppressor genes through the inhibition of DNMT1 and DNMT3B in colon cancer cells. **Nutrition and Cancer**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 118–125, 2013.

WANG, Xia et al. Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: Systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. **BMJ**, [s. l.], v. 349, n. July, p. 1–14, 2014.

XU, Feng et al. Blue light irradiation affects anthocyanin content and enzyme activities involved in postharvest strawberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 62, n. 20, p. 4778–4783, 2014.

YIN, Yuanqin et al. Quercitrin protects skin from UVB-induced oxidative damage. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [s. l.], v. 269, n. 2, p. 89–99, 2013.

ZHANG, Yu Jie et al. Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. **Molecules**, [s. l.], v. 20, n. 12, p. 21138–21156, 2015.

ZHU, Qinchang et al. In vitro bioactivities and phytochemical profile of various parts of the strawberry (*Fragaria × ananassa* var. Amaou). **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 13, p. 38–49, 2015.

ZUNINO, Susan J. et al. Effects of dietary strawberry powder on blood lipids and inflammatory markers in obese human subjects. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 108, n. 5, p. 900–909, 2012.

## INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS DA *AMBURANA CEARENSIS* (ALLEM.) A. C. SMITH: UMA REVISÃO

Data de aceite: 05/06/2020

### Jéssica Bento Szepainski

Faculdade de Floriano, Floriano-PI

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-0975-5480>

### Sílvia Maria Ribeiro Dias

Faculdade de Floriano, Floriano-PI

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-7420-4733>

### Huderson Macedo de Sousa

Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-2786-6253>

### Geise Raquel Sousa Pinto

Faculdade Pitágoras, São Luís-MA

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7475089799579286>

### Camila Vitória Pinto Teixeira

Faculdade Pitágoras, São Luís-MA

<http://lattes.cnpq.br/5020557627207149>

### Jovelina Rodrigues dos Santos Arrais Neta

Universidade Estadual do Piauí, Floriano-PI

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4185-4024>

### Maurício Almeida Cunha

Faculdade Pitágoras, São Luís-MA

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7371104946798732>

### Camila Roberta Oliveira da Silva

Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7531125582717222>

### Luís Gustavo Ribeiro da Luz

Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8383931197235493>

### Brendon Mendonca Pinheiro

Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3478253523548360>

### Margareth Santos Costa Penha

Instituto Florence de Ensino Superior, São Luís-MA

MA

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4666290768961134>

### Georgette Carnib de Sousa

Faculdade de Floriano, Floriano-PI

Orcid: [orcid.org/0000-0002-6959-1844](https://orcid.org/0000-0002-6959-1844)

**RESUMO:** O estudo teve como objetivo analisar na literatura as principais indicações terapêuticas da *Amburana cearensis*; e descrever os principais compostos químicos e partes da planta usada. Trata-se de uma revisão da literatura que foi desenvolvida entre os meses de agosto a outubro de 2019. Foram selecionados os artigos disponíveis na Biblioteca Eletrônica de Dados do Scientific Electronic Library Online (SciELO), na base de dados eletrônica da Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), através da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e em Revistas Eletrônicas disponíveis no Google acadêmico. Utilizaram-se como critérios de inclusão artigos científicos que responderam à questão norteadora, que estivessem na língua portuguesa e inglesa, disponíveis na íntegra e

gratuitamente nas bases de dados selecionadas no período de 2009 a 2019. Os resultados evidenciaram que a planta *A. cearensis* apresenta compostos químicos cujo princípio ativo principal é a cumarina além de possuir outros compostos como ácidos protocatecuico, flavonóides(isocampferídeos, campferol, afrormosina, 4'-metoxi-fisetina e queticina), e glicosídeos fenólicos (amburosídeo A e Amburosídeo B), Além disso, a parte usada da planta são as sementes e a casca do caule. Seu uso caseiro foi comprovado cientificamente a partir do extrato hidroalcoólico da casca do caule da planta. Conclui-se que a planta *A. cearensis* tem indicações terapêuticas anti-inflamatórias, antioxidante, antinociceptiva, efeito relaxante no músculo traqueal, broncodilatadora e antiespasmódica, além de não apresentarem toxicidade em doses usuais.

**PALAVRAS-CHAVES:** Indicações terapêuticas. *Amburana cearensis*. Plantas medicinais. Farmacobotânica. Uso popular.

## THERAPEUTIC INDICATIONS OF *AMBURANA CEARENSIS* (ALLEM.) A. C. SMITH: A REVIEW

**ABSTRACT:** The study aimed to analyze the literature as the main therapeutic indications for *Amburana cearensis*; and describe the main chemical compounds and parts of the plant used. This is a literature review that was developed between the months of August and October 2019. The articles available in the Electronic Data Library of the Electronic Scientific Library Online (SciELO) were selected from the electronic database of Latin American Literature and the Caribbean in Health Sciences (LILACS), through the Virtual Health Library (VHL) and in Electronic Journals available on Google academic. Used as including scientific articles that answer guiding questions, which were informed in Portuguese and English, available in full and free of charge in the selected databases from 2009 to 2019. The results evidenced by the plant *A. cearensis* presented chemical compounds whose principle The main active ingredient is coumarin, in addition to using other compounds such as protein protectors, flavonoids (isocampferids, campferol, afrormosin, 4'-methoxy-physetine and chemicals), and phenolic glycosides (amburid A and amburid B). In addition, a used part of plant are like seeds and stem bark. Its homemade use has been scientifically proven from the hydroalcoholic extract of the bark of the plant stem. It is concluded that the plant *A. cearensis* has anti-inflammatory , antioxidant, antinociceptive therapies, relaxing effect on the tracheal muscle, bronchodilator and antispasmodic, besides not presenting toxicity in usual doses.

**KEYWORDS:** Therapeutic indications. *Amburana cearensis*. Medicinal plants. Pharmacobotany. Use popular.

## 1 | INTRODUÇÃO

As plantas medicinais retribuem às mais antigas armas empregadas pelo homem no tratamento das doenças de todos os tipos, ou seja, o uso das plantas na prevenção



e/ou na cura de doenças é um costume que sempre existiu na história da população. E com isso as plantas medicinais representam a principal matéria médica no uso das chamadas “medicinas tradicionais”, que também pode ser não ocidentais, em suas práticas terapêuticas, constituindo a medicina popular a que utiliza o maior número de espécies diferentes (Firmo *et al.*, 2011).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), diz que 80% da população mundial não têm acesso ao atendimento primário à saúde e recorrem à medicina tradicional, especialmente as plantas medicinais, procurando a cura para muitas doenças. Essa prática é resultado do conhecimento popular repassada ao longo do tempo numa construção histórico-social de cada indivíduo (Araújo *et al.*, 2014).

Assim, devido ao Brasil ser conhecido internacionalmente por possuir a maior reserva florestal diversificada do planeta, tendo assim muitas plantas de interesse medicinal. De acordo Lorenzi & Matos (2008) a *Amburana cearensis* (Allem) A.C. Smith é uma árvore de caule ereto com até 20 metros de altura e pertencente à família Fabaceae. A espécie é também conhecida como cerejeira e, devido à qualidade de sua madeira, têm sido explorada na movelaria fina, esculturas e marcenaria em geral, estando listada como espécie ameaçada de extinção (Ibama, 1992).

A *Amburana cearensis* (*A. cearensis*) é considerada uma planta nativa da caatinga nordestina e é também encontrada nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Tocantins e da região Centro-Oeste. Por outro lado, a *Amburana acreana* tem sua distribuição restrita ao sudoeste da floresta amazônica (Rondônia, Acre e Amazonas). Há registros de sua ocorrência em outros países como no norte da Argentina, sul da Bolívia e nordeste do Paraguai e Peru (Leite, 2005).

Para Canuto (2007) *A. cearensis* pertence à família Fabaceae, também conhecida como Leguminosae, e recebe diferentes designações populares como ambaurana, baru, cumaru-do-ceará, cumaru-das-caatingas, imburana-de-cheiro, louro-ingá, umburana, angelim, cerejeira-rajada, cumaré, roble criollo, tumi e palo trébol.

Neste sentido, devido ao uso terapêutico pela população de forma empírica, tornou-se indispensável à realização de estudos científicos que justificassem a indicação da *A. cearensis* para o tratamento de afecções respiratórias. Assim, desde o início dos anos de 1980, estudos químicos e farmacológicos têm sido realizados, visando o aproveitamento desta planta para fins medicinais (Leal *et al.*, 2003).

Em um estudo clínico do xarope de cumaru realizado com voluntários sadios do sexo masculino revelaram que a administração diária (2 vezes ao dia) do produto, durante 28 dias, causou variações em alguns parâmetros bioquímicos ou hematológicos (hemoglobina, hematócrito, plaquetas, sódio, bilirrubina, ureia), contudo, esses valores retornaram aos níveis normais, durante ou logo após o estudo (Soares *et al.*, 2007).

Estudos apontam para a importância da planta como fitoterápico, sendo que já existem alguns produtos comerciais cujo princípio ativo principal é a cumarina. Além da



cumarina, outros compostos pouco explorados em relação às suas atividades biológicas, tais como glicerídeos dos ácidos palmítico, linoleico, oleico e esteárico, obtidos da semente da planta, têm sido pesquisados (Lorenzi & Matos, 2008).

Neste ensejo, a relevância baseia-se ao fato que a *Amburana cearensis* é uma planta com propriedades medicinais com várias finalidades. Esse trabalho foi motivado pelo anseio do aumento dos conhecimentos sobre as formas de uso, partes utilizadas e indicações terapêuticas da planta. O estudo fortalecerá a utilização da *Amburana cearensis* como alternativa terapêutica segura e adequada para as pessoas que fazem uso da mesma.

A pesquisa teve como objetivos analisar na literatura as principais indicações terapêuticas da *Amburana cearensis*; e descrever os principais compostos químicos e partes da planta usada.

## 2 | METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de revisão bibliográfica acerca das principais indicações terapêuticas da *Amburana cearensis*. De acordo com Lakatos & Marconi (2014), pesquisa bibliográfica ou de fontes secundária é aquela desenvolvida com base em materiais já publicados em livros, revistas, redes eletrônicas, e que estão acessíveis à população em geral.

Este estudo de revisão bibliográfica foi operacionalizado por cinco etapas as quais estão estreitamente interligadas: elaboração da pergunta norteadora, busca na literatura, coleta de dados, análise crítica e discussão dos resultados, e apresentação da revisão integrativa.

Para o desenvolvimento do estudo, foi realizado um levantamento nas bases de dados: Scientific Electronic Library Online (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e no Google acadêmico. Nestas bases, utilizaram-se os descritores: *Amburana cearensis*, Amburana-de-cheiro e Atividade farmacológica. A revisão compreendeu estudos no período de 2009 a 2019.

Para a realização desta revisão foram incluídos artigos científicos que responderam à questão norteadora, que estivessem na língua portuguesa e inglesa, disponíveis na íntegra e gratuitamente nas bases de dados selecionadas. Sendo excluídos os estudos cujo ano de publicação foi inferior a 2009 e artigos que se apresentaram fora dos critérios de inclusão.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o enquadramento dos critérios de inclusão, selecionou-se 35 artigos, destes

foram excluídos 10 artigos não se enquadram na temática, 09 artigos que não estavam disponíveis na íntegra, 05 artigos estavam fora do período estabelecido para análise dos dados, e por fim 1 artigos foram selecionados para discussão.

A partir do estudo dos artigos estabeleceram-se variáveis relevantes para observação das produções científicas relacionadas à pesquisa, conforme des rito na Tabela 1.

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>ANO DE PUBLICAÇÃO</b>		
2010	03	27,27
2011	01	9,09
2013	01	9,09
2014	02	18,18
2016	02	18,18
2017	01	9,09
2019	01	9,09
<b>ABORDAGEM METODOLÓGICA</b>		
Estudo quantitativo	03	27,27
Estudo de revisão da literatura	02	18,18
Estudo experimental quantitativo	03	27,27
Estudo quantitativo-qualitativo	01	9,09
Pesquisa experimental	02	18,18
<b>REGIÃO GEOGRÁFICA</b>		
Sudeste	04	36,36
Sul	01	9,09
Nordeste	03	27,27
Exterior	03	27,27

Tabela 1: Distribuição das produções científicas segundo o ano de publicação, abordagem metodológica e região geográfica (N= 1).

Fonte: Própria (2019)

Em relação à apresentação dos resultados dos dados avaliados após o levantamento bibliográfico, considerou-se os itens acima para a descrição das informações relevantes ao estudo. Observou-se na Tabela 1, que o ano com o maior número de publicações foi 2010, representando (27,27%), seguindo dos anos de 2014 e 2016 com duas publicações, representando (18,18%) cada ano. Os demais tiveram uma publicação cada ano, representando (9,09%) cada um deles. Com base no ano das publicações selecionadas, verificou-se que não houve crescimento sobre a temática voltada para o uso terapêutico.

Com relação à abordagem metodológica, a que predominou foi à pesquisa quantitativa com 3 publicações, representando (27,27%) da literatura pesquisada. Seguido de estudo experimental quantitativo com também 3 publicações selecionadas, representando (27,27%). Ressalta-se que a abordagem quantitativa se centra na objetividade e influenciada pelo positivismo, considera que a realidade só pode ser compreendida com

base na análise de dados brutos, recolhidos com o auxílio de instrumentos padronizados e neutros.

Em se tratando da região geográfica, a maioria dos trabalhos foi realizada na região sudeste (36,36%), da região nordeste foram selecionados 3 artigos (27,27%) e a região Sul teve somente um artigo selecionado apenas uma publicação selecionada (9,09%). Além disso, três artigos selecionados foram realizados no exterior (36,36%)

A Tabela 2 evidencia os periódicos e bases de dados mais relevantes para a realização da classificação dos artigos que compõem o estudo

<b>VARIÁVEIS</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>PERIÓDICO</b>		
Orbital: Electron. J. Chem	01	9,09
Scientia Plena	01	9,09
Congresso Internacional da Diversidade do Semiárido	01	9,09
Quim. Nova	01	9,09
Phytomedicine	01	9,09
Journal of Ethnopharmacology	01	9,09
Rev. Bras. Pl. Med	02	18,18
Revista Verde	01	9,09
Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde	01	9,09
Evid Based Complement Alternat Med	01	9,09
<b>BASE DE DADOS</b>		
Google Acadêmico	05	45,45
SciELO	04	36,36
MEDLINE	02	18,18

Tabela 2: Classificação dos artigos publicados conforme os periódicos e bases de dados

Fonte: Própria (2019)

A tabela 2 apontou que a revista Rev. Bras. Pl. Med teve dois artigos selecionados. A Revista Brasileira de Plantas Mediciniais (RBPM) foi iniciada em outubro de 1998 e contempla as grandes áreas do estudo multidisciplinar de plantas medicinais. As demais revistas cada uma representaram o percentual de (9,09%).

Com relação à base de dados, a maior parte dos artigos estão disponíveis no Google Acadêmico, representando (45,45%), seguido da biblioteca eletrônica de dados do SciELO com percentual de (36,36%) e por fim a base de dados da MEDLINE com 2 publicações, representando (18,18%).

O Quadro 1 abaixo discorre acerca das principais abordagens envolvendo as indicações terapêuticas da *Amburana cearensis*.

Nº	AUTORES	TÍTULO	OBJETIVOS DO ESTUDO
1	Almeida et al. (2010)	<i>Amburana cearensis</i> - uma revisão química e farmacológica.	Conhecer a composição química e as principais atividades farmacológicas atribuídas a esta espécie vegetal.
2	Canuto et al. (2010)	Estudo fitoquímico de espécies cultivados de Cumaru ( <i>Amburana cearensis</i> A. C. SMITH).	Proporcionar o isolamento de dez compostos, dos quais quatro foram identificados pela primeira vez no táxon <i>Amburana</i> .
3	Roque et al. (2010)	Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil).	Identificar as formas de uso de plantas medicinais nativas do bioma Caatinga, em comunidade rural no município de Caicó, Rio Grande do Norte (Nordeste do Brasil).
4	Leal et al. (2011)	Um estudo químico e farmacológico comparativo de extratos padronizados e ácido vanílico de <i>Amburana cearensis</i> A.C. Smith selvagem e cultivado.	Realizar um estudo químico comparativo e avaliar as atividades antinociceptivas e antiinflamatórias de extratos de etanol (EtOHE) e ácido vanílico (VA) de cultivadas <i>Amburana cearensis</i> A.C. Smith (Fabaceae), espécie ameaçada de extinção usada no nordeste do Brasil para o tratamento da asma.
5	Lima et al. (2013)	Avaliação da atividade antiedematogênica, antimicrobiana e mutagênica das sementes de <i>Amburana cearensis</i> (A. C. Smith) (Imburana-de-cheiro).	Avaliar os efeitos antiedematogênico, antibacteriano e mutagênico do extrato aquoso das sementes de <i>Amburana cearensis</i> .
6	Melo et al. (2014)	Atividade farmacológica da planta <i>amburana cearensis</i> (imburana) frente a estudo etnofarmacológico em Monte Azul-MG.	Avaliar a incidência do uso do conhecimento empírico da planta <i>Amburana cearensis</i> , suas principais indicações e seu estudo entofarmacológico em Monte Azul-MG.
7	SÁ et al. (2014)	Histoquímica e avaliação preliminar da atividade antibacteriana do extrato de clorofórmio de <i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C. Sm. contra estirpes produtoras de carbapenemase de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	Analisar a eficácia do extrato de clorofórmio da casca do caule de <i>Amburana cearensis</i> quanto à atividade antibacteriana.
8	Alves et al. (2016)	Aspectos químicos e farmacológicos do cumaru ( <i>Amburana Cearensis</i> ): um fitoterápico próprio do semiárido.	Propõe expor as características dessa planta, bem como expor os seus aspectos químicos e farmacológicos, visto que a mesma é uma fonte de propriedades que possuem a capacidade de tratar doenças.
9	Santos et al. (2016)	Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Presentes na <i>Amburana cearensis</i> .	Investigar a atividade antioxidante dos constituintes fenólicos presentes em <i>Amburana cearensis</i> .
10	Pereira et al. (2017)	O extrato de semente de <i>Amburana cearensis</i> protege as mitocôndrias cerebrais do estresse oxidativo e as células cerebelares da excitotoxicidade induzida pelo glutamato.	Avaliar o efeito neuroprotetor dos extratos obtidos das sementes de <i>A. cearensis</i> em culturas primárias de células cerebelares submetidas à excitotoxicidade induzida por glutamato e mitocôndrias cerebrais submetidas ao estresse oxidativo.

11	Silva et al. (2019)	<i>Amburana cearensis</i> Allem sob o efeito alelopático de <i>Pityrocarpa moniliformis</i> .	Avaliar uma possível interferência alelopática por ocasião da emergência e desenvolvimento inicial das plântulas de <i>A. cearensis</i> .
----	---------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Quadro 1: Classificação dos artigos conforme número de ordem, autores/ano, títulos e objetivos. Floriano, 2019.

Fonte: Própria (2019).

No quadro acima podemos observar a preocupação de todos os autores em conhecer a *Amburana Cearensi*. Os estudos buscam conhecer a composição química, as principais atividades farmacológicas atribuídas a esta planta, partes mais utilizadas, formas de uso e até possíveis interferências desse vegetal com outras drogas.

### 3.1 Uso terapêutico da *Amburana cearensis*

Sabe que as plantas medicinais têm alto consumo de forma empírica. Dessa forma, a “umburana-de-cheiro” tem extenso uso na medicina popular, principalmente, no tratamento de doenças como dor de barriga, reumatismo, tosse, bronquite e asma, lambedor ou chá, no tratamento de resfriados, bronquites, gripes e asma. A casca do caule na forma de banho é empregada contra dores reumáticas, enquanto as sementes são utilizadas no alívio sintomático da dor-de-dente (Almeida et al., 2010). No estudo realizado por Melo et al., (2014) identificou-se que a 92% a população de Monte Azul-MG utiliza a planta *Amburana cearensis* para tratar alguma doença. Com relação ao uso terapêutico, verificou-se que a maioria utiliza para dor de barriga, bronquites, asma e reumatismo e a minoria utiliza para menopausa, hipertensão, gota e outras indicações.

Segundo os resultados do estudo de Lima et al., (2013) não foi evidenciada atividade antimicrobiana, contra as cepas de bactérias utilizadas, uma vez que o extrato aquoso das sementes de *Amburana cearensis* não inibiu o crescimento bacteriano nas concentrações e metodologia empregada. Os autores também enfatizam que devido ao uso difundido da *Amburana cearensis* para fins terapêuticos, tornam relevante a realização de estudos científicos que justificassem a sua indicação para afecções respiratórias. Já que de acordo com Canuto et al., (2010) a *Amburana cearensis* é indicada para o tratamento de afecções respiratórias, é largamente utilizada na medicina popular no preparo de uma formulação caseira, chamada de “lambedor”, e também na produção industrial do fitoterápico “xarope de cumaru”.

O estudo experimental com animais realizado por Leal et al., (2011) identificou-se que o ácido vanílico (VA) de planta *A. cearensis* é responsável pelos efeitos farmacológicos. Neste estudo o efeito antinociceptivo ocorreu por um mecanismo parcialmente dependente do sistema opioide, enquanto a ação anti-inflamatória nos animais foi manifestada em processos dependentes de células polimorfonucleares e provavelmente estão relacionados

à inibição da VA citocinas.

De acordo com Pereira et al., (2017) os efeitos neuroprotetores dos extratos de sementes de *Amburana cearensis* é considerado um potencial agente terapêutico no tratamento e prevenção de doenças neurodegenerativas. Alves et al., (2016) corroboram ao destacarem que o dicumarol, outra cumarina encontrada na *Amburana cearensis*, tem ação hipoprotrombínica, atuando de forma competitiva com a vitamina K, através da ação antagonista com a enzima hepática que participa na síntese da protrombina. Sendo assim, em muitas atividades farmacológicas já foram atribuídas às cumarinas, tais como: hipotensiva, antimicrobiana, anti-inflamatória, antitumoral, antimalárica, leishmanicida e anti-chagásica.

A eficácia sobre o uso plantas medicinais no tratamento de diversas doenças e o conhecimento sobre seu uso, preparo e parte do vegetal a ser utilizada são na grande maioria das vezes transmitida de geração em geração de forma empírica e contribuem para sua grande utilização por populações tradicionais. Os estudos científicos veem apenas confirmar a eficácia sobre seu uso

### 3.2 Principais compostos químicos e partes da planta usada

As cascas do caule e as sementes são empregadas na medicina caseira em várias regiões do país, sobretudo no Nordeste. As cascas do caule são indicadas como também como analgésico e espasmolítico. As sementes são utilizadas na forma de decocto e infuso como contra espasmos musculares (anti-espasmódicas), como emenagogas e para o tratamento de doenças reumáticas (Almeida et al., 2010). A casca do caule mais utilizada é basicamente constituída de cumarina, responsável pelo seu odor peculiar, dos flavonoides isocampferídio, campferol e afrormosina, pelos glicosídeos fenólicos amburosídeos A e B, dos ácidos fenólicos, ácido vanílico e ácido protocatecuico, além de quantidades abundantes de sacarose (Melo et al., 2014). As cumarinas presente no caule da planta são provavelmente responsáveis, juntamente com outras substâncias, pela ação benéfica das infusões das cascas e pela atividade broncodilatadora determinada experimentalmente, validando cientificamente o uso popular e o tratamento caseiro, especialmente em crianças e idosos (ROQUE & ROCHA, 2010).

De acordo com os resultados encontrados no estudo de Lima et al. (2013) a imburana-de-cheiro, cerejeira ou cumaru do Ceará como é conhecida popularmente, apresenta como características botânicas porte regular, flores brancas, vagem achatada, seca e escura, sementes pretas e arredondadas e a casca do caule vermelho- pardacento. As sementes e a casca do caule possuem constituintes como a cumarina, que são lactonas do ácido o-hidroxi-cinâmico, com atividade anti-inflamatória, anticoagulante, vasodilatadora, espasmolítica e antitrombótica.

Os autores Santos et al. (2016) identificaram no estudo que o extrato etanólico de

*Amburana cearensis* apresentou alta concentração de fenóis totais e grande atividade antioxidante no experimento. Contudo, as demais frações apresentaram menores valores, sugerindo assim que não apenas as sementes que são já bastante estudadas como também as folhas da *A. cearensis* podem ser uma alternativa aos antioxidantes sintéticos, na preparação de aditivos alimentar, bem como em preparações farmacêuticas e cosméticas. A eficácia do uso popular de *A. cearensis* é comprovada por estudos farmacológicos a partir do extrato hidroalcoólico da casca do caule e de alguns de seus constituintes químicos, os quais demonstraram atividades analgésicas, broncodilatadora e anti-inflamatória (Canuro., 2010)

O estudo de Leal et al. (2011) evidenciou que as plantas de *A. cearensis* cultivadas e as selvagens têm perfis fitoquímicos semelhantes. Além disso, os extratos de etanol (EtOHE) da planta cultivada, apresentou atividade farmacológica semelhante, em comparação ao EtOHE de planta selvagem. No estudo de Sá et al. (2014) o extrato de clorofórmio da casca do caule de *Amburana cearensis* foi quimicamente caracterizado e testado quanto à atividade antibacteriana. Dessa maneira, o estudo identificou que *A. cearensis* é uma boa fonte de compostos metoxi-metilfenol, que podem ser rastreados quanto à atividade antibacteriana contra bactérias resistentes a múltiplas espécies de diferentes espécies.

De acordo com os resultados encontrados no estudo de Lima et al. (2013) a cumaru do Ceará como é conhecida popularmente, apresenta como características botânicas porte regular, flores brancas, vagem achatada, seca e escura, sementes pretas e arredondadas e a casca do caule vermelho- pardacento. As sementes e a casca do caule possuem constituintes como a cumarina, que são lactonas do ácido o-hidroxi-cinâmico, com atividade anti-inflamatória, anticoagulante, vasodilatadora, espasmolítica e antitrombótica. Para Roque et al., (2010) existem formas de preparo dos remédios utilizados pelos especialistas locais que fogem dos métodos convencionais de preparo. Das cascas do cumaru, são feitas balas que são muito apreciadas por crianças e adultos, mas que são remédios para sinusite.

Assim como outras espécies de vegetais, a *Amburana Cearensis* é largamente utilizada na para fins terapêuticos e vem despertando o interesse de pesquisadores sobre a sua ação farmacológica.

#### 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se afirmar com base na literatura pesquisada, que a planta *Amburana cearensis* é uma planta medicinal que teve seu uso caseiro comprovado cientificamente através de estudos farmacológicos a partir do extrato hidroalcoólico da casca do caule e de alguns de seus constituintes químicos.

*Amburana cearensis* em seus constituintes químicos (ácido protocatecuico, cumarinas, flavonóides, glicosídeos fenólicos) possuem propriedades farmacológicas, incluindo-se



atividades, anti-inflamatória, antinociceptiva, antioxidante e/ou efeito relaxante músculo traqueal, broncodilatadora, antiespasmódica, além de não apresentarem toxicidade em doses usuais. A *Amburana cearensis*, possui aspectos químicos e farmacológicos de grande importância para a saúde, visto que a mesma se trata de uma planta fitoterápica

Contudo, ressalta-se que a literatura ainda é escassa sobre a temática. Sendo assim, espera-se que os trabalhos futuros venham desenvolver medicamentos ou produtos fitoterápicos a partir dos compostos químicos extraídos da *Amburana Cearensis*.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Jackson Roberto Guedes da Silva et al. *Amburana cearensis*: uma revisão química e farmacológica. 2010.

CANUTO, Kirley Marques; SILVEIRA, Edilberto Rocha; BEZERRA, Antonio Marcos Esmeraldo. Estudo fitoquímico de espécimens cultivados de cumaru (*Amburana cearensis* AC Smith). **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 662-666, 2010.

CANUTO, Kirley Marques. Aspectos químicos do estudo interdisciplinar (Química-Agronomia-Farmacologia) de *Amburana cearensis* AC Smith. 2007.

FIRMO, Wellyson da Cunha Araújo et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de pesquisa**, 2012.

GARÉ, Guilherme Medina et al. IBAMA-INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **ANAIS DO FÓRUM DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FUNEC**, v. 2, n. 2, 2011.

LAKATOS, Eva Maria; DE ANDRADE MARCONI, Marina. **Metodologia do trabalho científico: procedimentos básicos, pesquisa bibliográfica, projeto e relatório, publicações e trabalhos científicos**. 2001.

LIMA, L. R. et al. Avaliação da atividade antiedematogênica, antimicrobiana e mutagênica das sementes de *Amburana cearensis* (AC Smith)(*Imburana-de-cheiro*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 415-422, 2013.

LEAL, L. K. A. M. et al. A comparative chemical and pharmacological study of standardized extracts and vanillic acid from wild and cultivated *Amburana cearensis* AC Smith. **Phytomedicine**, v. 18, n. 2-3, p. 230-233, 2011.

LEAL, L. K. A. M. et al. Toxicological study of the hydroalcoholic extract from *Amburana cearensis* in rats. **Pharmaceutical biology**, v. 41, n. 4, p. 308-314, 2003.

LEITE, Edson J. State-of-knowledge on *Amburana cearensis* (Fr. Allem.) AC Smith (Leguminosae: Papilionoideae) for genetic conservation in Brazil. **Journal for Nature Conservation**, v. 13, n. 1, p. 49-65, 2005.

LORENZI, Harri. *Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas*. 2008.

MELO, CÁSSIA; SOUZA, POLIANA; DAMASCENO, EURISLENE. Atividade farmacológica da planta *Amburana cearensis* (*imburana*) frente a estudo etnofarmacológico em Monte Azul-Mg. **Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde**, v. 1, n. 2, p. 31-34, 2015.

PEREIRA, Érica Patrícia Lima et al. *Amburana cearensis* seed extract protects brain mitochondria

from oxidative stress and cerebellar cells from excitotoxicity induced by glutamate. **Journal of ethnopharmacology**, v. 209, p. 157-166, 2017.

ROQUE, Alan de Araújo; ROCHA, Renato de Medeiros; LOIOLA, Maria Iracema Bezerra. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 1, p. 31-42, 2010.

SÁ, Mirivaldo Barros et al. Phytochemistry and preliminary assessment of the antibacterial activity of chloroform extract of *Amburana cearensis* (Allemão) AC Sm. against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing strains. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

SANTOS, Larisse de Oliveira et al. Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Presentes na *Amburana cearensis*. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 44-49, 2016.

SILVA, Joyce Naiara et al. *Amburana cearensis* Allem sob o efeito alelopático de *Pityrocarpa moniliformis*. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 14, n. 1, p. 161-165, 2019.

SOARES, AKA et al. Clinical toxicology study of a herbal medicine formulation of *Torresea cearensis* in healthy volunteers. **Rev. Bras. Plantas Med**, v. 9, n. 2, p. 55-60, 2007.

## **SOBRE A ORGANIZADORA**

**IARA LÚCIA TESCAROLLO** - Possui graduação em Ciências Farmacêuticas pela Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), mestrado e doutorado em Fármacos e Medicamentos pela Universidade de São Paulo (USP/SP), área de Produção e Controle Farmacêuticos. Foi Coordenadora da Assistência Farmacêutica na Prefeitura Municipal de Itatiba onde desenvolveu projetos de Atenção Farmacêutica relacionados ao uso racional de medicamentos. Foi professora da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas) e Faculdade de Americana (FAM). Na Universidade São Francisco (USF) foi Coordenadora do Curso de Farmácia – Campus Bragança Paulista, atualmente é Coordenadora do Programa Institucional de Iniciação Científica, Tecnológica e de Extensão, é Coordenadora do Núcleo de Pesquisa Acadêmica, professora do Curso de Farmácia, membro do Grupo de Pesquisa em Meio Ambiente e Sustentabilidade (GPMAS/CNPq) e Grupo de Pesquisa em Educação, Tecnologias e Inovação (GPETI-USF). Faz parte do Comitê de Ética em Pesquisa da USF. Desenvolve projetos voltados à produção e avaliação de formas farmacêuticas e cosméticas com ênfase no emprego de insumos e processos ambientalmente amigáveis. Também orienta projetos tendo como referência o estudo do impacto da implementação de Metodologias Ativas como Aprendizagem Baseada em Projetos e Sala de Aula Invertida nos cursos de graduação. Possui patentes, artigos e capítulos de livros publicados dentro do universo acadêmico-científico.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Ácido Tartárico 42, 43, 44, 45, 47, 48, 85  
Acne Vulgar 103, 104, 110, 115, 117  
Aditivos Alimentares 67, 80  
Allium cepa 51, 52, 53, 56, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 69, 70, 74, 76, 78, 80  
Análise Sensorial 130, 144, 145, 146, 147, 149, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 159  
Análises Toxicológicas 82  
Antocianinas 52, 179, 180, 182, 183, 185, 186, 188  
Apicultura 171, 173, 174, 176  
Aroeira 92, 93, 94, 95, 96, 98, 99, 100, 101, 102  
Aromatizantes 66, 67, 68, 70, 72, 74, 75, 76, 77, 78, 79  
Arroz 81, 82, 83, 84, 85, 86, 88, 89, 90, 91  
Artemia salina 51, 52, 53, 55, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 70, 71, 77, 78, 79, 80

### B

Biodiversidade 106, 171, 172, 173, 174, 176  
Biotina 118, 119, 120, 123, 124, 127, 128, 130, 153, 154, 155, 159  
Biotinidase 118, 119, 120, 129, 130, 153, 154, 159

### C

Calorimetria 2, 5, 8  
Cianocobalamina 29, 30, 32, 35, 36  
Ciclodextrina 2, 4, 8, 9, 10, 12, 13  
Citotoxicidade 51, 53, 54, 59, 61, 62, 66, 69, 71, 77, 78, 162  
Comprimido 2, 5, 6, 7, 11, 12, 13, 23, 24, 25, 26  
Controle De Qualidade 6, 11, 12, 19, 22, 28, 30, 31, 38, 92, 95, 100, 101, 102, 118, 120, 121, 122, 124, 126, 128, 142  
Cosméticos 103, 106, 110, 111, 116, 117, 131, 132, 133, 134, 142, 143, 144, 150, 152, 172, 174  
Cravo-Da-Índia 103, 105, 107, 108, 110, 115, 144, 147, 149  
Cristais Líquidos 103, 106, 111, 143  
Cromatografia 30, 91, 107, 147, 164

### D

Degradação Forçada 29, 30, 33, 34, 35, 39  
Dermocosméticos 103, 104, 106, 107, 110, 115, 116, 117, 144, 147, 149, 151, 172  
Difratrometria 5, 9

Dipirona 16, 17, 18, 26, 28

Dureza 2, 7, 11, 12, 13, 16, 18, 21, 23, 25, 26

## E

Efavirenz 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15

Elagitaninos 179, 180, 183, 184, 185, 188

Estudo Fitoquímico 63, 65, 79, 102, 117, 168, 169, 197, 201

Exatidão 29, 33, 34, 36, 44

## F

Fitoterapia 63, 93, 94, 101, 175

Friabilidade 2, 7, 11, 12, 13, 16, 18, 20, 24, 26

Fungos 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 110, 111

## G

Gel 131, 132, 133, 134, 137, 138, 139, 140, 141, 160, 161, 164

Geleia 118, 120, 121, 122, 123, 124, 126, 127, 128, 130, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159

Genotoxicidade 51, 53, 55, 62, 66, 69, 71, 77, 78

## L

Linearidade 29, 33, 35, 36

## M

Manjeriço 131, 133, 134, 137, 138, 139, 143

Medicamentos 13, 16, 18, 19, 25, 26, 27, 28, 39, 40, 51, 52, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 78, 79, 81, 95, 101, 118, 119, 133, 142, 154, 162, 174, 201, 203

Melaleuca 103, 106, 107, 108, 110, 115, 116, 117, 144, 147, 149

Metabólitos Secundários 82, 83, 87, 88, 93, 98, 101, 133, 140, 142, 162, 174, 178, 179, 181, 182, 185

Micotoxinas 81, 82, 84, 87, 88, 89, 90

Morango 124, 129, 179, 180, 181, 182, 183, 185, 186, 187, 188, 189

## N

Neutralização 41, 42, 43, 44, 45, 47, 48

Nutracêuticos 117, 180

## O

Óleos Essenciais 68, 103, 106, 107, 112, 115, 131, 133, 134, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 147, 148, 149, 162, 172, 174, 175

orodispersível 2, 6, 12, 13

## P

Piper Da Paraíba 160

Piridoxina 29, 30, 32, 35, 36, 39, 182

Pirulito 118, 120, 121, 122, 123, 124, 126, 127, 128, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159

Plantas Medicinais 52, 62, 63, 65, 94, 95, 100, 101, 102, 132, 133, 142, 143, 177, 183, 192, 193, 196, 197, 198, 199, 201, 202

polifenóis 182, 185, 186, 187, 188

Polifenóis 180

Precisão 29, 33, 36, 44, 126

Própolis 65, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178

## T

Titulometria 41, 42, 43, 44, 45, 47

Toxicidade 51, 52, 53, 55, 56, 60, 61, 62, 64, 65, 66, 67, 69, 72, 77, 78, 79, 84, 102, 148, 192, 201

## V

Vinho 41, 42, 43, 44, 46, 48, 49, 50

Vitaminas 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 86, 119, 172, 182

 **Atena**  
Editora

**2 0 2 0**