
**AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE LOÇÃO
CICATRIZANTE CONTENDO ÓLEO DE GIRASSOL (*Helianthus annuus*) E
EXTRATOS DE PICÃO PRETO (*Bidens pilosa*)**

**PRELIMINARY EVALUATION OF THE PHYSICO-CHEMICAL STABILITY OF HEALING
LOTION CONTAINING SUNFLOWER OIL (*Helianthus annuus*) AND EXTRACTS OF
HAIRY BEGGARTICK (*Bidens pilosa*)**

**Júlio César BORELLA¹; Rafael Simões de SOUZA²; Yan Gustavo Machado
CARRIEL²**

1 - Professor titular das disciplinas de Farmacognosia, Fitoterápicos e Química Farmacêutica do Curso de Farmácia do Centro Universitário Barão de Mauá

2 – Aluno do curso de Farmácia do Centro Universitário Barão de Mauá (Iniciação Científica)

RESUMO:

Formulações cicatrizantes emulsivas (O/A) foram preparadas a quente e a frio, usando lecitina de soja, como agente emulsificante, contendo óleo de girassol (*Helianthus annuus*) e extratos hidroetanólicos (1:10) ou hidroglicólicos (1:10) de picão preto (*Bidens pilosa*). Análises referentes aos aspectos organolépticos (cor e odor), propriedades físicas (homogeneidade, pH, densidade e viscosidade relativa) e químicas (índice de peróxidos e quantificação de flavonoides) foram realizadas durante 4 meses após preparo, mantendo as formulações a temperatura ambiente (22-25°C). Os resultados das análises evidenciaram que as formulações possuíam baixa estabilidade termodinâmica (ocorrência de cremagem e floculação) e química (ocorrência de oxidação e hidrólise de ácidos graxos), independentemente do tipo de extrato vegetal utilizado e do modo de preparo realizado, durante o período de armazenagem analisado. No entanto, pequena degradação oxidativa (ranço) e de flavonoides foi detectada até o primeiro mês de estocagem, tornando viável a utilização destas loções cicatrizantes até este momento, mediante agitação prévia da formulação.

PALAVRAS CHAVE: Medicamentos fitoterápicos, Produção de medicamento, Controle de Qualidade.

ABSTRACT

Emulsive healing formulations (O/W) were prepared hot and cold, using soy lecithin, as an emulsifying agent, containing sunflower oil (*Helianthus annuus*) and hydroethanolic (1:10) or hydroglycolic (1:10) extracts of beggartick (*Bidens pilosa*). Analyzes regarding organoleptic aspects (color and odor), physical properties (homogeneity, pH, density and relative viscosity) and chemical (peroxide index and flavonoid content) were performed during 4 months after preparation, keeping the formulations at room temperature (22-25°C). The analysis results showed that the formulations had low thermodynamic stability (occurrence of cremation and flocculation) and chemical (occurrence of oxidation and hydrolysis of fatty acids), regardless of the type of plant extract used and the method of preparation performed, during the analyzed storage period. However, small oxidative degradation (rancidity) and flavonoid degradation was detected up to the first month of storage, making it feasible to use these healing lotions until this moment, after previous

agitation of the formulation.

KEYWORDS: Phytotherapeutic Drugs, Production of products, Quality control,

1. INTRODUÇÃO

Desde a pré-história, nos momentos em que o ser humano era acometido por algum ferimento, intuitivamente, ele procurava socorro por meio dos elementos da natureza, principalmente plantas. Com o passar dos tempos, ocorreu seleção de algumas, as quais sua utilização é realizada até os dias atuais (ROCHA et al., 2021).

Associado a este fato, nas últimas décadas ocorreu grande aumento no consumo deste tipo de medicamento pela população mundial, e entre os fitoterápicos de uso tradicional, 33% deles destinam-se ao tratamento de feridas ou doenças de pele (BUDOVSKY; YARMOLINSKY; BEN-SHABAT, 2015).

No entanto, para que um medicamento fitoterápico seja considerado cicatrizante eficaz, ele deve ter atividade anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, analgésica e epitelizante (DAS; BEHERA; PRAMANIK, 2017).

Bidens pilosa (picão preto), pertencente à família Asteraceae, espécie medicinal com origem na América do Sul, possui na composição química de seus extratos a quercetina e outros flavonoides (BORELLA; OLIVEIRA, 2022). Tais princípios ativos concorrem para a existência de ações antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e estimulante da neoangiogênese e da produção de colágeno, que podem estar promovendo a ação cicatrizante apresentada por esta espécie (GHOSH; GABA, 2013; DEGELO, 2010; FOTSO et al., 2014; KYAKULAGA et al., 2011; SANTOS et al., 2020). Seus extratos, produzidos com solventes de média e alta polaridade, são mais concentrados em flavonoides, portanto, mais adequados para serem utilizados para esta indicação terapêutica (BORELLA; OLIVEIRA, 2022).

Na mesma linha de raciocínio, o óleo fixo extraído das sementes de girassol (*Helianthus annuus*), também da família Asteraceae, rico em ácidos graxos essenciais, é princípio ativo para tratamento da manutenção da integridade e da barreira hídrica da pele. Serve como barreira protetora contra microrganismos, evita a desidratação tecidual e mantém a temperatura corpórea, além de possuir importante caráter imunomodulador. Ele contém lipídios de composição semelhante à do estrato córneo da epiderme, onde a deficiência nutricional destes ácidos graxos pode retardar o processo cicatricial (ação epitelizante) (BUDOVSKY; YARMOLINSKY; BEN-SHABAT, 2015; LIN; ZHONG; SANTIAGO, 2017; LANIA et al., 2019).

Sendo assim, nota-se que em uma formulação contendo os princípios ativos descritos deverá apresentar problemas de estabilidade, devido às diferentes polaridades das substâncias. Deste modo, o óleo fixo de girassol e os extratos de *B. pilosa* (usando como líquidos extratores o etanol, propilenoglicol e água) só podem ser estabilizados em um sistema a partir da estruturação de emulsões.

As emulsões são sistemas coloidais, termodinamicamente instáveis, e constituídos por dois líquidos imiscíveis, estabilizados por tensoativos, localizados na superfície dos glóbulos dispersos. Por conta da ação do tensoativo, há diminuição da tensão interfacial dos componentes e estabilização o sistema. Estas preparações podem receber a denominação de loções e são usadas na área farmacêutica, principalmente para uso tópico, pois veiculam princípios ativos de natureza diversa. São facilmente aplicadas e diminuem a irritabilidade dérmica de certos princípios ativos (COELHO et al., 2022).

Proporções adequadas da fase oleosa, aquosa e de tensoativos fazem com que as emulsões ganhem estabilidade. No entanto, detalhes da técnica de preparo destas preparações também pode ser fator que influencia maior, ou menor estabilidade das micelas formadas. Fatores como a temperatura na qual se desenvolve a preparação da formulação, força de agitação para formação das micelas, entre outras, podem ser preponderantes para a estabilização da emulsão (MASMOUDI et al., 2005; FRANGE; GARCIA, 2009; PRESTES et al., 2009).

Ainda podem ser utilizados na formulação, adjuvantes farmacotécnicos, com o objetivo de manter sua integridade física, química e microbiológica, pois é comum ocorrerem nestes sistemas instabilidades (cremagem, floculação e coalescência), causando alteração da viscosidade e sua divisão; processos oxidativos (ranço) e outros processos degradativos dos princípios ativos presentes no óleo (hidrólise) e nos extratos, além do crescimento fúngico e microbiano (FRANGE; GARCIA, 2009).

As análises empregadas para avaliar a estabilidade físico-química e caracterizar composição química de loções, como a avaliação organoléptica, pH, centrifugação, densidade, viscosidade relativa, índice de peróxidos e quantificação dos ativos presentes devem fazer parte de qualquer tipo de ação que objetive estabelecer critérios sobre o controle de qualidade para o produto acabado (BRASIL 2004; MASMOUDI et al., 2005; BORELLA et al., 2018).

Sendo assim, a proposta do presente trabalho foi o desenvolvimento e avaliação preliminar de formulação (loção) cicatrizante, contendo os insumos farmacêuticos citados e também avaliando os procedimentos mais adequados para seu preparo, para que seja

mantida estabilidade física e química, durante período de estocagem, após produção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo dos extratos vegetais

Extratos hidroglicólicos (propilenoglicol:água 1:1 v/v) e extratos hidroetanólicos (etanol:água 77:23 v/v) foram produzidos, usando a proporção entre líquido extrator e droga vegetal de *B. pilosa* de 10% (1:10), à semelhança das técnicas de obtenção de tinturas (BORELLA; OLIVEIRA, 2022). O processo de obtenção destes extratos foi o mesmo descrito na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (BRASIL, 2019), que utiliza maceração, por um período de sete dias, com agitação diária e filtração no final do período, para obtenção do extrato. Foram produzidos 1000 mL para cada um dos extratos. Eles foram embalados e rotulados em frascos de vidro âmbar, com tampa e batoque e armazenados em temperatura ambiente (22-25°C).

2.2 Preparo das loções

Foram utilizados os seguintes insumos farmacêuticos para preparo das loções: Óleo de girassol desodorizado SM/Fagron lote 20102-B077-067168; Metilparabeno Dinâmica lote 57416; Propilparabeno Fagron lote 20120828#3; Propilenoglicol Fagron lote 14073478A; Vitamina E (acetato de α -tocoferol) SM/Fagron lote 20F-15B027-064932; Vitamina A (palmitato de retinol) SM/Fagron lote 20F-15B027-064932, Lecitina de soja (pastosa) Fagron lote 20120828#3 e extratos hidroglicólicos e hidroetanólicos de *B. pilosa* (1:10), produzidos para esta finalidade.

A Tabela 1 apresenta a formulação utilizada para avaliação preliminar da estabilidade da loção.

Tabela 1. Formulação da loção contendo óleo de girassol e extratos de *B. pilosa*

| Componentes | % (m/m) |
|---|----------------|
| Fase A | |
| Óleo de girassol | 20,00 |
| Vitamina E (acetato de α -tocoferol) | 0,40 |
| Vitamina A (palmitato de retinol) | 0,02 |
| Lecitina de soja (pastosa) | 8,00 |
| Fase B | |
| Propilenoglicol | 5,00 |
| Metilparabeno | 0,18 |
| Propilparabeno | 0,02 |
| Fase C | |
| Extrato <i>B. pilosa</i> (1:10) | 20,00 |
| Água purificada qsp | 100,00 |

% (m/m): porcentagem massa massa.

Fonte: os autores (2022).

A obtenção das loções foi viabilizada por meio de duas técnicas de preparo:

A frio: À temperatura ambiente (22-25°C), num recipiente pesou-se a lecitina de soja pastosa, o óleo de girassol e as vitaminas A e D (Fase A). Em outro recipiente foram pesados e solubilizados os parabenos em propilenoglicol (Fase B). Quantidade adequada do extrato de *B. pilosa* e água purificada foram reservadas em um terceiro recipiente (Fase C). A partir daí, sob agitação vigorosa a 1700 rpm (agitador marca Marconi modelo MA261), foram adicionados sobre a fase C, a fase B e posterior e lentamente, a fase A. Esta mistura ficou sob agitação até a formação da emulsão (aproximadamente 5 minutos).

A quente: Neste método, a temperatura da fase oleosa (A – sem as vitaminas) foi elevada a 70°C; as temperaturas das fases B e C também foram elevadas em torno de 70°C e foram previamente misturadas. Foram usados três recipientes: o primeiro para a fase oleosa, o segundo para as fases B e C e o terceiro para misturar as fases com agitação vigorosa (1700 rpm – agitador marca Marconi modelo MA261), até a formação da emulsão (aproximadamente 5 minutos). Este sistema foi resfriado até temperatura ambiente (22-25°C) e a agitação diminuída (500 rpm), quando os agentes antioxidantes (vitaminas A e D) foram adicionados, até perfeita homogeneização.

Desta forma, foram produzidos três lotes de 500 mL (n=3) de cada uma das loções,

em ambas as condições de formulação, resultando seis tipos de produtos:

- I. loção sem os extratos produzido a frio - controle (LF);
- II. loção sem os extratos produzido a quente - controle (LQ);
- III. loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio (LEF);
- IV. loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente (LEQ);
- V. loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio (LGF);
- VI. loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente (LGQ).

Todos estes produtos foram embalados e rotulados em frascos de vidro âmbar, com tampa e batoque.

2.3 Avaliação das loções

Todas as formulações produzidas foram armazenadas a temperatura ambiente (22-25°C), por um período de estocagem de 4 meses. Durante este período estas preparações foram submetidas a ensaios de estabilidade físico-química.

As loções foram avaliadas por meio de análise organoléptica, centrifugação, pH, densidade, viscosidade relativa, índice de peróxidos e quantificação da flavonoides.

Antes de quaisquer dos testes realizados, as amostras eram agitadas por 15 segundos, na tentativa da perfeita homogeneização da formulação.

Estas avaliações ocorreram periodicamente, no tempo de 24 horas, 1, 2, 3 e 4 meses após preparo das formulações. As análises foram realizadas em triplicata.

2.3.1 Análise organoléptica

As análises organolépticas foram realizadas de forma comparativa entre as amostras, sendo observados aspecto, coloração e odor das preparações, após 10 minutos de repouso de 100 mL de cada uma das loções, em frasco aberto e transparente (béquer).

2.3.2 Centrifugação

As formulações foram submetidas ao ensaio preliminar de estabilidade por centrifugação, usando centrífuga (modelo Fanen 206 – Baby I), com velocidade de 3000 rpm, durante 30 minutos, a temperatura ambiente. A seguir, as amostras foram analisadas visualmente quanto à separação de fases, conforme indicado na Farmacopeia Brasileira 6ª

ed. (BRASIL, 2019).

2.3.3 pH

A determinação de pH foi realizada utilizando-se amostras diluídas em água destilada (1:10 p/v), homogeneizadas e submetidas à leitura em pHmetro digital marca TecnoPhon (modelo mPA210), previamente calibrado com soluções de pH 7,0 e 4,0, conforme descrito na Farmacopeia Brasileira 6^a ed. (BRASIL, 2019). As médias destes resultados foram utilizadas para análise estatística.

2.3.4 Densidade

A determinação da densidade relativa das formulações foi realizada por picnometria, conforme descrito na Farmacopeia Brasileira 6^a ed. (BRASIL, 2019). As médias destes resultados foram utilizadas para análise estatística.

2.3.5 Viscosidade relativa

Para a obtenção da viscosidade relativa das amostras, mediu-se os tempos de escoamento das loções e da água, usando viscosímetro de Ostwald modificado, para 3mL de volume de amostra, mantendo a temperatura constante (22°C), conforme descrito na Farmacopeia Brasileira 6^a ed. (BRASIL, 2019). A viscosidade relativa foi calculada utilizando a equação abaixo, com os dados obtidos das loções (1) e da água (2). As médias destes resultados foram utilizadas para análise estatística.

$$n_1 = \rho_1 t_1$$

$$n_2 = \rho_2 t_2$$

n = coeficiente de viscosidade

t = tempo gasto para o líquido fluir

ρ = densidade do líquido na temperatura do experimento

2.3.6 Índice de peróxidos

As avaliações foram realizadas conforme descrito na Farmacopeia Brasileira 6^a ed. (BRASIL, 2019) (método A), por iodometria, empregando solução titulante de tiosulfato de sódio e solução de amido, como indicador. As médias destes resultados foram utilizadas para avaliação estatística.

2.3.7 Quantificação dos flavonoides

A metodologia para quantificação de flavonoides totais nas formulações foi realizada usando espectrofotometria, conforme descrito por Borella et al. (2019). Este tipo de metodologia é consagrado para uso em vários tipos de drogas vegetais que apresentam flavonoides e com descrição rotineira na Farmacopeia Brasileira.

No entanto, um pré-tratamento das amostras foi necessário para purificação da fração flavonoídica das loções (O/A). Borella e Fontoura (2002) utilizaram metodologia para extrair impurezas lipídicas da amostra, antes da quantificação dos flavonoides. Na técnica há uma etapa inicial em que as amostras são particionadas com tetracloreto de carbono, que retém estas impurezas. As médias destes resultados foram utilizadas para avaliação estatística.

2.3.8 Análises estatísticas

Os resultados das avaliações descritas foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com o programa SISVAR 5.6.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com intuito de potencializar as ações cicatrizantes da formulação sobre a pele, os diferentes extratos produzidos foram utilizados na composição das loções, onde também foi utilizado óleo de girassol como um dos constituintes da fase oleosa.

Para a dispersão destes extratos e do óleo de girassol, como se desejava a homogeneidade do sistema e sua manutenção duradoura, foi necessário propiciar a formação de sistema emulsivo (O/A), com introdução de um agente tensoativo. Associado

a esta situação, é de se ressaltar que preparações contendo substâncias oleosas estão sujeitas às alterações químicas, provocadas por processos oxidativos (ranço), tendo como alvo, principalmente, os ácidos graxos insaturados presentes. Neste sentido, à formulação também foi adicionada de agentes antioxidantes, com o objetivo de retardar a degradação de componentes químicos da formulação. Este complexo antioxidante foi composto por vitamina E, vitamina A e lecitina de soja (fosfolípídeo). Além dos componentes terem a ação citada, eles também agem sobre a epiderme, produzindo sua regeneração e hidratação (PAN; TIKEKAR; NITIN, 2013; SANTOS; OLIVEIRA, 2014).

A lecitina de soja terá, além desta, outra função na formulação, que será de viabilizar a estabilização (ação tensoativa) do óleo de girassol junto aos extratos polares de *B. pilosa* e a fase aquosa. Trabalho desenvolvido por Canseco (2013), usando a lecitina para produção de emulsões O/A, sem adição de qualquer tipo de princípio ativo, concluiu que o uso de 8% (p/p) deste tensoativo zwitteriônico foi suficiente para estabilizar este sistema emulsivo.

Também é possível nestas preparações, a contaminação microbiológica. Por conta disto, se fez necessária a adição de conservantes microbiológicos (metil e propilparabeno), para dar maior segurança no que se refere às contaminações desta natureza. Estes adjuvantes farmacotécnicos foram introduzidos à formulação dispersos em um agente umectante (propilenoglicol)

3.1 Análise organoléptica

Este tipo de avaliação é a primeira a ser considerada, em uma avaliação preliminar, pois pode evidenciar características fortes de instabilidade e alterações no estado químico e microbiológico das amostras (CANSECO, 2013).

Durante o período de estocagem, observou-se instabilidade das loções contendo os extratos, por observação de seu aspecto heterogêneo, não importando o tipo de preparo utilizado (a quente ou a frio), ou o tipo de extrato utilizado (hidroetanólico ou hidroglicólico). A formulação controle (a quente) se manteve homogênea durante todo o período de análise, enquanto o controle preparado a frio se mostrou heterogêneo a partir do 3º mês de estocagem (Tabela 2).

Maior instabilidade foi causada pelos extratos hidroetanólicos, com loções preparadas a quente ou a frio, pois em análise após 24 horas do preparo se observou formulações heterogêneas. Por outro lado, as formulações contendo os extratos

hidroglicólicos, preparados a quente ou a frio, se apresentaram homogêneas até 24 horas após o preparo (Tabela 2).

Tabela 2. Aspecto observado nas amostras das loções contendo extratos de *B. pilosa*

| Tempo de estocagem | LF (controle) | LQ (controle) | LEF | LEQ | LGF | LGQ |
|--------------------|---------------|---------------|---------|---------|---------|---------|
| 24 horas | homog | homog | heterog | heterog | homog | homog |
| 1 mês | homog | homog | heterog | heterog | heterog | heterog |
| 2 meses | homog | homog | heterog | heterog | heterog | heterog |
| 3 meses | heterog | homog | heterog | heterog | heterog | heterog |
| 4 meses | heterog | homog | heterog | heterog | heterog | heterog |

LF (controle): loção sem os extratos produzido a frio; LQ (controle): loção sem os extratos produzido a quente; LEF: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio; LEQ: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente; LGF: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio; LGQ: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente; homog: homogêneo; heterog: heterogêneo.

Fonte: os autores (2022).

A adição dos extratos nas formulações provocou escurecimento nas mesmas. Isto foi mais acentuado com uso dos extratos hidroglicólicos, não importando o tipo de preparo que foi utilizado (a quente ou a frio).

Com o passar do tempo de armazenagem (1^o mês em diante), observou-se o escurecimento de todos os tipos de formulações, inclusive dos controles, exceto daquele produzido a quente, que se mostrou com a mesma cor até o final do período de estocagem (Tabela 3).

Tabela 3. Coloração observada nas amostras das loções contendo extratos de *B. pilosa*

| Tempo de estocagem | LF (controle) | LQ (controle) | LEF | LEQ | LGF | LGQ |
|--------------------|----------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 24 horas | bege claro | bege claro | bege claro | bege claro | bege escuro | bege escuro |
| 1 mês | bege claro | bege claro | bege escuro | bege escuro | bege escuro | bege escuro |
| 2 meses | bege claro | bege claro | bege escuro | bege escuro | bege escuro | bege escuro |
| 3 meses | Bege amarelado | bege claro | bege escuro | bege escuro | marrom | marrom |
| 4 meses | bege amarelado | bege claro | bege escuro | bege escuro | marrom | marrom |

LF (controle): loção sem os extratos produzido a frio; LQ (controle): loção sem os extratos produzido a quente; LEF: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio; LEQ: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente; LGF: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio; LGQ: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente.

Fonte: os autores (2022).

Odor característico para cada tipo de formulação foi observado, principalmente em função dos tipos de solventes utilizados nos extratos (odor alcoólico para as loções

preparadas com os extratos hidroetanólicos e inodoros para os controles e para as loções preparadas com os extratos hidroglicólicos).

Estas características se mantiveram durante todo o período de análise, para todos os tipos de formulação, não importando o tipo de preparo (a quente ou a frio), incluindo os controles. Somente no final do período de estocagem (4 meses), observou-se odor característico de reações de degradação de lipídeos (ranço) para as loções que não possuíam etanol na sua composição (Tabela 4).

Tabela 4. Odor observado nas amostras das loções contendo extratos de *B. pilosa*

| Tempo de estocagem | LF (controle) | LQ (controle) | LEF | LEQ | LGF | LGQ |
|--------------------|---------------|---------------|-----------|-----------|---------|---------|
| 24 horas | inodoro | inodoro | alcoólico | alcoólico | inodoro | inodoro |
| 1 mês | inodoro | inodoro | alcoólico | alcoólico | inodoro | inodoro |
| 2 meses | inodoro | inodoro | alcoólico | alcoólico | inodoro | inodoro |
| 3 meses | inodoro | inodoro | alcoólico | alcoólico | inodoro | inodoro |
| 4 meses | rançoso | rançoso | alcoólico | alcoólico | rançoso | rançoso |

LF (controle): loção sem os extratos produzido a frio; LQ (controle): loção sem os extratos produzido a quente; LEF: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio; LEQ: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente; LGF: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio; LGQ: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente.

Fonte: os autores (2022).

3.2 Centrifugação

Esta análise força o aumento da mobilidade das partículas e prevê possíveis instabilidades em relação às micelas presentes na emulsão (**PRESTES, 2009**).

As técnicas de preparo (a quente e a frio) e os adjuvantes incorporados nas formulações se mostraram pouco eficientes para promover a estabilidade termodinâmica das emulsões. Por conta disto, 24 horas após o preparo, as formulações contendo os extratos hidroetanólicos e hidroglicólicos apresentaram separação de fases após o teste de centrifugação, independentemente do modo de preparo (a quente ou a frio) (Tabela 6).

A loção controle produzida a frio, só mostrou evidências de instabilidade (separação de fases) após três meses de estocagem. Por outro lado, não houve separação de fases na loção controle produzida a quente, durante todo o período de estocagem, evidenciando que o principal fator causador da instabilidade nas formulações deriva dos componentes

específicos dos extratos utilizados (Tabela 5).

Tabela 5. Separação de fases, após centrifugação, observada nas amostras das loções contendo extratos de *B. pilosa*

| Tempo de estocagem | LF (controle) | LQ (controle) | LEF | LEQ | LGF | LGQ |
|--------------------|---------------|---------------|--------|--------|--------|--------|
| 24 horas | não separa | não separa | separa | separa | separa | separa |
| 1 mês | não separa | não separa | separa | separa | separa | separa |
| 2 meses | não separa | não separa | separa | separa | separa | separa |
| 3 meses | separa | não separa | separa | separa | separa | separa |
| 4 meses | separa | não separa | separa | separa | separa | separa |

LF (controle): loção sem os extratos produzido a frio; LQ (controle): loção sem os extratos produzido a quente; LEF: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio; LEQ: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente; LGF: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio; LGQ: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente.

Fonte: os autores (2022).

Observando os resultados oriundos das análises organolépticas (aspecto) e do teste de centrifugação, presume-se que, os fenômenos associados à instabilidade de emulsões foram os responsáveis pelo aspecto heterogêneo das preparações. A cremagem (partículas menos densas tendem a se deslocar para a superfície da preparação) e a floculação (aglomeração de partículas da fase interna da micela reduz a força de repulsão entre elas, devido à carga inadequada instaurada neste sistema) (FRANGE; GARCIA, 2009) poderiam ser os fatores que concorreram para estes resultados.

3.3 pH

Alterações do pH, para formulações contendo lipídios, tornando-as mais ácidas, conforme a duração da estocagem, podem evidenciar o desenvolvimento de reações de degradação, como, por exemplo, a hidrólise de ésteres de ácidos graxos (FRANGE; GARCIA, 2009).

A comparação entre o pH dos controles e das demais formulações contendo os extratos evidenciou, inicialmente, valores estatisticamente iguais. No entanto, com o transcorrer do período de estocagem (a partir do 2º mês), maior acidez foi detectada, independentemente do tipo de preparo utilizado (a quente ou a frio).

A partir do 3º mês de estocagem, notou-se decréscimo de pH também nas formulações

controle, evidenciando aceleração nos processos degradativos que ocorreram nestas formulações (Tabela 6).

Tabela 6. Médias do pH observadas nas amostras das loções contendo extratos de *B. pilosa*

| Tempo de estocagem | LF (controle) | LQ (controle) | LEF | LEQ | LGF | LGQ |
|--------------------|---------------|---------------|-------|-------|-------|------|
| 24 horas | 6,7a | 6,6a | 6,4ab | 6,4ab | 6,5a | 6,5a |
| 1 mês | 6,7a | 6,7a | 6,6a | 6,5a | 6,7a | 6,6a |
| 2 meses | 6,7a | 6,7a | 6,3b | 6,4ab | 6,2b | 6,2b |
| 3 meses | 6,2b | 6,2b | 6,3b | 6,2b | 6,1bc | 6,2b |
| 4 meses | 6,0c | 6,2b | 6,3b | 6,0c | 5,9c | 6,0c |

LF (controle): loção sem os extratos produzido a frio; LQ (controle): loção sem os extratos produzido a quente; LEF: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio; LEQ: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente; LGF: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio; LGQ: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente; n = 3; p < 0,05 – ANOVA seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si. Fonte: os autores (2022).

3.4 Densidade

Alterações da densidade, conforme o tempo de armazenagem transcorre, podem indicar alterações físico-químicas que estejam ocorrendo nas formulações (BRASIL, 2019). Na tabela 7 são apresentadas as densidades obtidas das diversas amostras, durante o período de estocagem.

Tabela 7. Médias das densidades (g/mL - 22°C) observadas nas amostras das loções contendo extratos de *B. pilosa*

| Tempo de estocagem | LF (controle) | LQ (controle) | LEF | LEQ | LGF | LGQ |
|--------------------|---------------|---------------|-------|-------|-------|-------|
| 24 horas | 0,97a | 0,98a | 0,97a | 0,98a | 1,00a | 1,00a |
| 1 mês | 1,00a | 0,99a | 0,97a | 0,95a | 1,01a | 1,01a |
| 2 meses | 0,98a | 0,99a | 0,96a | 0,98a | 1,01a | 1,00a |
| 3 meses | 0,99a | 0,98a | 0,95a | 0,97a | 1,02a | 0,98a |
| 4 meses | 0,99a | 0,98a | 0,96a | 0,94a | 0,99a | 0,99a |

g/mL: grama por mililitro; LF (controle): loção sem os extratos produzido a frio; LQ (controle): loção sem os extratos produzido a quente; LEF: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio; LEQ: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente; LGF: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio; LGQ: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente; n = 3; p < 0,05 – ANOVA seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si. Fonte: os autores (2022).

Para esta propriedade físico-química, observou-se inicialmente, que as densidades

das loções sofreram pequenas variações numéricas, não detectadas estatisticamente, mas que acompanharam as densidades dos principais solventes dos extratos das formulações, tendendo a diminuir a densidade quando se usou extrato hidroetanólico e tendendo a se equiparar com a água, quando se utilizou extratos hidroglicólicos.

Com o passar do tempo de estocagem, observou-se que as densidades obtidas das amostras não sofreram qualquer alteração estatística.

3.5 Viscosidade relativa

Variações na viscosidade de formulações farmacêuticas durante o período de estocagem podem evidenciar falta de compatibilidade entre os componentes da fórmula, ou ainda, alterações químicas que resultam nestas variações (FRANGE; GARCIA, 2009). Na tabela 8 observam-se as variações de viscosidade relativa, que foram detectáveis durante o período de armazenagem das loções.

Tabela 8. Médias das viscosidades relativas (22°C) observadas nas amostras das loções contendo extratos de *B. pilosa*

| Tempo de estocagem | LF (controle) | LQ (controle) | LEF | LEQ | LGF | LGQ |
|--------------------|---------------|---------------|--------|---------|---------|---------|
| 24 horas | 1,412a | 1,682b | 2,012c | 1,598ab | 1,725b | 1,689b |
| 1 mês | 1,421a | 1,600b | 2,012c | 1,492ab | 1,727b | 1,852b |
| 2 meses | 1,142d | 1,563b | 1,876b | 1,787b | 1,789b | 1,757b |
| 3 meses | 1,083d | 1,640b | 1,840b | 1,771b | 1,800b | 1,761b |
| 4 meses | 1,045d | 1,623b | 1,884b | 1,451ab | 1,423ab | 1,530ab |

LF (controle): loção sem os extratos produzido a frio; LQ (controle): loção sem os extratos produzido a quente; LEF: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio; LEQ: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente; LGF: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio; LGQ: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente; n = 3; p < 0,05 – ANOVA seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. Médias
Fonte: os autores (2022).

Ao analisar os resultados da tabela 8, nota-se que a viscosidade entre as amostras sofreu algumas alterações significativas, conforme transcorria o tempo de estocagem. Considerando os resultados estatísticos, a maioria das formulações teve decaimento na viscosidade. Assim, estes resultados tendem a demonstrar a baixa estabilidade que estas loções possuem. O fato do sistema emulsivo não ser estável, em longo prazo e reações de degradação que ocorreram no transcorrer do período podem ser os motivadores para a inconstância destes resultados.

3.6 Índice de peróxidos (IP)

Este indicador reflete o nível de reações oxidativas (ranço) que se desenvolve na amostra analisada. A reação de oxidação a partir de ácidos graxos insaturados é a mais frequente das reações degradativas em materiais lipídicos, ocasionada principalmente pelo modo de manipulação e armazenamento (PAN; TIKEKAR; NITIN, 2013).

As análises realizadas, logo após o preparo das formulações, mostraram que maior oxidação dos compostos ocorreu nas formulações que continham os extratos, independentemente do modo de preparo (a quente ou a frio), quando comparado com as formulações controles (Tabela 9).

A partir do 1º mês de estocagem, os níveis de IP se igualaram estatisticamente entre todas as amostras e a partir do 2º mês, notou-se elevada ascensão destes índices, evidenciando que estas formulações ficaram estáveis para as reações de oxidação por, no máximo, um mês após preparo (Tabela 9).

Não foi possível dar continuidade às avaliações de IP nos meses subsequentes (3º e 4º meses), pois a técnica de análise (titulação por iodometria) ficou inviabilizada, devido não se conseguir observar com nitidez a mudança de coloração na zona de transição, após o acréscimo do indicador (solução de amido). Este fato ocorreu, muito provavelmente, pela intensa degradação causada pelas reações de oxidação, a partir deste momento de estocagem, produzindo, com maior velocidade, os compostos secundários (decomposição dos hidroperóxidos), os quais não são quantificados pela iodometria (VERGARA et al., 2006).

Tabela 9. Médias do Índice de Peróxidos (mEq O₂/Kg) observadas nas amostras das loções contendo extratos de *B. pilosa*

| Tempo de estocagem | LF (controle) | LQ (controle) | LEF | LEQ | LGF | LGQ |
|--------------------|---------------|---------------|------|------|------|------|
| 24 horas | 1,1a | 1,5ab | 1,8b | 1,7b | 2,1b | 1,8b |
| 1 mês | 1,7b | 2,0b | 2,3b | 2,1b | 2,5b | 1,9b |
| 2 meses | 5,6c | 4,1c | 6,4c | 5,0c | 5,6c | 4,2c |
| 3 meses | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| 4 meses | nd | nd | nd | nd | nd | nd |

mEq O₂/Kg: miliequivalente de oxigênio ativo por quilograma; LF (controle): loção sem os extratos produzido a frio; LQ (controle): loção sem os extratos produzido a quente; LEF: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio; LEQ: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente; LGF: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio; LGQ: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente; n = 3; p < 0,05 – ANOVA seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si. nd: não determinado. Fonte: os autores (2022).

3.7 Doseamento dos flavonoides

Na tabela 10 estão apresentadas as médias das análises referentes ao doseamento dos flavonoides, durante o período de armazenagem das loções.

Tabela 10. Médias das concentrações de flavonoides (% m/m - estimados como se fossem quercetina) nas amostras das loções contendo extratos de *B. pilosa*

| Tempo de estocagem | LEF | LEQ | LGF | LGQ |
|--------------------|---------|---------|---------|---------|
| 24 horas | 0,007ab | 0,006ab | 0,008a | 0,006ab |
| 1 mês | 0,007ab | 0,007ab | 0,009a | 0,009a |
| 2 meses | 0,004c | 0,004c | 0,004c | 0,006ab |
| 3 meses | 0,005bc | 0,005bc | 0,006ab | 0,007ab |
| 4 meses | 0,004c | 0,003c | 0,003c | 0,004c |

% m/m: porcentagem massa massa; LEF: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a frio; LEQ: loção contendo extrato hidroetanólico produzido a quente; LGF: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a frio; LGQ: loção contendo extrato hidroglicólico produzido a quente; n = 3; p < 0,05 – ANOVA seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, não diferem estatisticamente entre si.

Fonte: os autores (2022).

Ao observar os resultados apresentados para o teor de flavonoides presentes nas formulações, nota-se a tendência de queda gradual dos teores, conforme o tempo de estocagem progredia, sendo que, no 4^o mês de estocagem, foram detectadas as menores concentrações de flavonoides, para todos os tipos de formulações analisadas. No entanto, alterações (estatísticas) acentuadas foram detectadas a partir do 2^o mês de estocagem, mostrando que processos degradativos mais intensos ocorreram a partir deste momento, independentemente do tipo de extrato e da forma de preparo utilizados. Esta informação vem ao encontro dos achados realizados para pH (Tabela 6) e índice de peróxidos (Tabela 9), que também mostraram alterações significativas a partir do 2^o mês de estocagem. Sendo assim, pode-se admitir que, para estas formulações, a estabilidade química dos componentes flavonoídicos foi observada somente nos períodos iniciais de armazenamento (do momento do preparo até o 1^o mês).

4. CONCLUSÕES

Após avaliação dos resultados dos experimentos realizados com formulações de loções, que incluíram óleo de girassol e extratos de *B. pilosa*, produzidas a quente e a frio, conclui-se que:

- As formulações testadas apresentaram baixa estabilidade termodinâmica, independentemente do tipo de extrato utilizado, ou do modo de preparo das formulações (separação de fase no teste de centrifugação e aspecto heterogêneo).
- Alterações na cor da formulação foram observadas, sendo acompanhado por escurecimento, conforme o tempo de estocagem transcorria. Alterações no odor (rançoso) foram observadas somente no final do tempo de estocagem (4^o mês) nas loções que não foram formuladas com extratos contendo etanol.
- Reações de degradação, principalmente de oxidação de ácidos graxos, foram mais fortemente detectáveis (índice de peróxidos) a partir do 2^o mês de estocagem, independentemente do tipo de extrato utilizado, ou do modo de preparo das formulações. Estes resultados foram acompanhados pela diminuição do pH das formulações (podendo ser indicativo de reações de hidrólise de ácidos graxos) e subsequente alteração na viscosidade relativa das amostras.
- Não foram observadas alterações significativas na densidade das amostras testadas.
- O teor de flavonoides presente nas formulações ficou estável do momento do preparo até o 1^o mês de estocagem. Sendo observadas, posteriormente, grandes alterações nos resultados (decréscimo da concentração), provavelmente devido às reações de degradativas que ocorreram nas formulações.
- Considera-se viável a utilização das loções durante o primeiro mês após seu preparo, contendo quaisquer dos extratos testados, podendo ser manipuladas a frio, ou a quente, pois neste período não foi observado alterações significativas nas propriedades físico-químicas (pH, índice de peróxidos, viscosidade relativa e doseamento dos flavonoides).
- Devido à baixa estabilidade apresentada pelas formulações aconselha-se a aplicação do produto, após agitação prévia, para que o sistema emulsivo seja reconstituído, pois os fenômenos observados de instabilidade (cremagem e floculação) podem ser revertidos por fornecimento mínimo de energia ao sistema.

No entanto, em futuras investigações, alterações na formulação, inclusive nas proporções das fases oleosa (com óleo de girassol), aquosa (com os extratos de *B. pilosa*), do tensoativo (usando a lecitina de soja, ou outro agente tensoativo) e dos componentes

antioxidantes (vitaminas A e E) poderão ser testadas, procurando um ideal equilíbrio hidrofílico lipofílico (EHL), na tentativa de aumentar o tempo de estabilidade físico-química das loções.

5. REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. ANVISA. Brasília, 2004. Disponível em <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-estabilidade-de-cosmeticos.pdf/view>. Acessado em 10 jul 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira 6.ed.** Volume I e II. ANVISA. Brasília, 2019. Disponível em <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>. Acessado em 10 jul 2022.

BORELLA, Júlio César; FONTOURA, Andrea. Avaliação do perfil cromatográfico e do teor de flavonóides em amostras de *Baccharis trimera* (Less.) DC. Asteraceae (carqueja) comercializadas em Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 63-67, 2002.

BORELLA, Júlio César et al. Formas farmacêuticas semissólidas a base de Papaína – Avaliação preliminar da estabilidade, contaminação microbiológica e atividade enzimática. **Visão Acadêmica**, v. 19, n. 2, 2018.

BORELLA, Júlio César et al. *Bidens pilosa* - picão preto: influência da adubação orgânica e da luminosidade na produtividade e no teor de flavonoides. **Revista Fitos**, v. 13, n.4, p.261-269, 2019.

BORELLA, Júlio César; OLIVEIRA, Bianca Fátima Bredariol. Variação das propriedades físico-químicas de extratos de *Bidens pilosa* L. - Asteraceae (picão preto) influenciada pelo processo extrativo. **Revista Fitos, Ahead of print. 2022. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1353>>. Acesso em 09 nov 2022.**

BUDOVSKY, Arie; YARMOLINSKY, Ludmila; BEN-SHABAT, Simon. Effect of medicinal plants on wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v.23, n.2, p.171-183, 2015.

CANSECO Verónica Germania Medina. Evaluación del efecto tensoactivo de lecitina natural aplicada en la elaboración de emulsiones farmacéuticas. Quito. 2013. Trabajo de investigación para optar por el grado de Química Farmacéutica. Universidad Central del Ecuador.

COELHO, João Paulo Martins et al. Estudo de estabilidade de sistema emulsionado contendo *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) e *Rosa aff. rubiginosa* (Rosaceae). **Revista Fitos**, v.16, n. 2, p. 192-205, 2022.

DAS Urmimala; BEHERA Sudhanshu Shekhar; PRAMANIK Krishna. Ethno-herbal-medicinal in wound repair: An incisive review. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 4, p. 579-590, 2017.

DEGELO Giovana Caramaschi. **Estudo do efeito do extrato hidroglicólico de *Bidens pilosa* na expressão de genes relacionados à integridade da pele**. Botucatu. 2010. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas], UNESP.

FOTSO, Aurélien Fotso et al. Analgesic and antiinflammatory activities of the ethyl acetate fraction of *Bidens pilosa* (Asteraceae). **Inflammopharmacology**, v. 22, n. 2, p. 105-114, 2014.

FRANGE, Renata C. C.; GARCIA, Maria Teresa Junqueira. Desenvolvimento de emulsões óleo de oliva/água: avaliação da estabilidade física. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, 2009.

GHOSH, Prasanta Kumar; GABA, Anjali. Phyto-extracts in wound healing. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 5, p. 760-820, 2013.

KYAKULAGA, A. Hassan et al. Wound healing potential of the ethanolic extracts of *Bidens pilosa* and *Ocimum suave*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 5, n. 2, p. 132-136, 2011.

LANIA, Bruno Grosselli et al. Topical essential fatty acid oil on wounds: local and systemic effects. **Plos one**, v. 14, n. 1, p. e0210059, 2019. Disponível em: <https://journals.plos.org/>

plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0210059. Acesso em 10 jul 2022.

LIN, Tzu-Kai, ZHONG, Lily; SANTIAGO, Juan Luis. Anti-inflammatory and skin barrier repair effects of topical application of some plant oils. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 1, p.70, 2018.

MASMOUDI, Houdamas et al. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. **International journal of pharmaceutics**, v. 289, n. 1-2, p. 117-131, 2005.

PAN, Yuanjie; TIKEKAR, Rohan V.; NITIN, N. Effect of antioxidant properties of lecithin emulsifier on oxidative stability of encapsulated bioactive compounds. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 450, n. 1-2, p. 129-137, 2013.

PRESTES, Paula Souza et al. Avaliação da estabilidade físico-química de emulsão acrescida de uréia dispersada, ou não, em propilenoglicol. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 30, n. 1, p. 47-53, 2009.

ROCHA, Luiz Paulo Bezerra et al. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e44101018282-e44101018282. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/18282>. Acesso em 10 jul 2022.

SANTOS, Carlos Eduardo C. et al. Efeito do extrato de *Bidens pilosa* L., Mel e pomadas homeopática e alopática na cicatrização de feridas cutâneas de ratos Wistar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, p. 1286-1294, 2020.

SANTOS, Mirelli Papalia; OLIVEIRA, Nádia Rosana Fernandes. Ação das vitaminas antioxidantes na prevenção do envelhecimento cutâneo. **Disciplinarum Scientia| Saúde**, v. 15, n. 1, p. 75-89, 2014.

VERGARA, Paula et al. Estudo do comportamento de óleo de soja e de arroz reutilizados em frituras sucessivas de batata. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 207-220, 2006.

Autor para correspondência:

Júlio César Borella

Email: julio.borella@baraodemaua.br

Centro Universitário Barão de Mauá

Recebido: 11/11/2022 Aceite:29/11/2022