

Avaliação das propriedades físico-químicas, microbiológicas e permeação cutânea da *Calendula officinalis* L. Em diferentes concentrações e formas farmacêuticas



<https://doi.org/10.56238/sevened2023.004-049>

Karina Valandro

Graduada em farmácia
Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES
E-mail: karina.valandro@universo.univates.br

Liana Johann

Doutorado em Zoologia
Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES
E-mail: liana@univates.br

Luisa Scheer Ely

Doutorado
Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES
E-mail: luisa.ely@univates.br

Jane Herber

Doutorado
Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES

E-mail: jane.herber@univates.br

Marines Persigo Morais Rigo

Mestrado
Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES
E-mail: mpmr@univates.br

RESUMO

A *Calendula officinalis* L. é uma planta herbácea que possui propriedades antiulcerativa, cicatrizante, restauradora, antiedematosa e refrescante. Neste artigo foi avaliado a permeação do extrato glicólico de *C. officinalis* em creme e gel em diferentes concentrações. Realizado também testes de estabilidade acelerada, bem como testes organolépticos, físico-químicos e microbiológicos.

Palavras-chave: *Calendula officinalis* L., Físico-químicos, Microbiológicos e Permeação cutânea.

1 INTRODUÇÃO

A incidência de neoplasias malignas têm aumentado nos últimos anos, com prevalência de diagnósticos dos tumores de cabeça e pescoço, sendo a radioterapia a principal forma de tratamento. A radioterapia utiliza a radiação ionizante, promovendo a morte das células malignas, além de causar lesões que na maioria das vezes são irreversíveis. As lesões teciduais induzidas pela radiação emitida na radioterapia são chamadas de radiodermatite.¹

Em análise de publicações, os medicamentos alopáticos mais utilizados na prevenção e tratamento da radiodermatite são corticoesteroides tópicos, Tetra-Cream® e Bepantol®. Contudo, tais medicamentos apresentam inúmeras reações adversas, como dermatite de contato (devido aos conservantes utilizados), infecções cutâneas, dermatite perioral, atrofia cutânea e efeitos adversos sistêmicos (também podem ocorrer devido a corticoterapia tópica).²

A utilização de plantas é uma prática milenar que se destaca como uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. O uso de plantas medicinais aumentou nos últimos anos devido à ausência de terapias economicamente mais viáveis. *C. officinalis*, também conhecida como mal-me-quer, 23 margarida-dourada e maravilha-dos-jardins, destaca-se por suas inúmeras indicações,



utilizada para pruridos, eritema solar, queimaduras, dermatoses secas, feridas, úlceras, acne, tonificante da pele, fungos de pele, icterícia, inflamação dos olhos e prevenção da radiodermatite, entre outros. A sua utilização é recomendada por via tópica para ações terapêuticas anti-inflamatórias e cicatrizantes, estimulando a regeneração dos tecidos pelo aumento do metabolismo de glicoproteínas, nucleoproteínas e proteínas dos colágenos.³

A *C. officinalis* é uma planta que já vem sendo utilizada em formulações semissólidas para o tratamento de pacientes que desenvolvem radiodermatite. Em estudo clínico randomizado, duplo cego, em pacientes com câncer de cabeça e pescoço, o creme de *C. officinalis* apresentou efetividade na prevenção e tratamento da radiodermatite.⁴

A permeação de ativos pela pele ocorre por duas vias: via transepidérmica (intercelular e intracelular) e via transanexial (transfolicular e transudorípara). Para realização de testes de permeação cutânea in vitro são utilizadas células de difusão pelo método de Franz. As células são compostas por dois compartimentos: o doador e o receptor, e a amostra da pele é colocada entre os dois compartimentos. Devido às semelhanças fisiológicas com a pele humana, a pele de porco é o modelo animal mais adequado para a realização deste método.⁵

A avaliação físico-química de formulações consiste em um conjunto de testes realizados em laboratório, visando avaliar as propriedades e características físicas e químicas do produto. Dentre os tipos de testes, estão o pH, densidade, espalhabilidade e centrifugação.⁶ Já os testes microbiológicos identificam contaminação microbiana de um produto, analisando alterações com propriedades físicas e químicas, buscando encontrar indícios de risco de infecção para o usuário.⁷

2 OBJETIVO

Analisar as propriedades físico-químicas, microbiológicas e a permeação cutânea de duas formas farmacêuticas semissólidas em diferentes concentrações do extrato glicólico da *C. officinalis*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento das formulações foi realizado uma pesquisa em literatura a qual embasou os principais ativos a serem utilizados em creme (Tabela 1) e gel (Tabela 2), como emulsionantes (creme), agentes neutralizantes e gelificantes (gel), tensoativos, umectantes, antioxidantes e conservantes.



Tabela 1. Formulação de creme aniônico utilizado para incorporar o extrato glicólico de *C. officinalis* nas concentrações 7% e 10%

Insumo	Porcentagem de uso
Fase Oleosa (Fase B)	
Lanette N	16%
Estearato de Octila	16%
Glicerol	6,35%
Fase Aquosa (Fase A)	
Solução de parabenos	3,3%
Água	qsp 800mL
Fase C	
Solução conservante de imida	0,6%

Fonte: Da autora (2023).

Tabela 2. Formulação do gel de carbopol utilizado para incorporar o extrato glicólico de *C. officinalis* nas concentrações 7% e 10%

Insumo	Porcentagem de uso
Carbopol 940	1%
EDTA dissódico	0,05%
Propilenoglicol	5,2%
Solução conservante de imida	0,5%
Solução AMP-95 50%	2%
Água purificada	qsp 800mL

Fonte: Da autora (2023).

Durante a produção das formulações foram analisados alguns aspectos para verificar a compatibilidade do extrato nos veículos, como a solubilidade da *C. officinalis* no creme e no gel, pré-estabilidade, homogeneidade e características organolépticas.

3.1 AMOSTRA DE ESTUDO

Para análise comparativa da permeação cutânea da *C. officinalis* foi utilizado o extrato glicólico nas concentrações 7% e 10% em dois veículos: creme e gel produzidos nos laboratórios da Farmácia-Escola da Universidade do Vale do Taquari - Univates. As concentrações citadas, foram anteriormente retiradas do laudo do extrato glicólico da *C. officinalis* que preconiza a concentração entre 5-10% do



ativo no uso em em loções, cremes, produtos pós-barba e pós-depilação, shampoos, condicionadores e sabonetes. A determinação da permeabilidade foi analisada na pele suína. A pele em questão foi obtida logo após o abate do suíno e não houve processo de escalda, para que não houvesse a perda das condições favoráveis à permeabilidade. Após a realização dos testes de permeação cutânea pelo método de células de Franz, foram realizados testes físico-químicos e microbiológicos nas formulações que permearam.

3.2 PREPARAÇÃO DA PELE

A pele do porco foi removida da cartilagem com bisturi e higienizada com álcool 70% e água, estando íntegra e com o mínimo de vasos sanguíneos e gorduras. Após a remoção da pele, ela foi cortada em círculos e medida com um paquímetro para obter-se tamanhos similares. A pele foi guardada em papel alumínio e conservada a - 4 °C até o momento de uso, de forma que não ultrapasse o tempo de 30 dias, para que não houvesse perda de nenhuma condição de permeabilidade. Para a realização do teste, a pele estava descongelada e aquecida em banho ultratermostatizado à 32 °C, simulando a temperatura do corpo.

3.3 CÉLULAS DE FRANZ

O método utilizado para analisar a permeabilidade é o de Franz, pois é o método mais utilizado para determinar a permeação cutânea em medicamentos e cosméticos. As células de Franz são conhecidas por serem células de difusão estática, de dose finita, onde a pele é disposta em Vertical Diffusion Cell (VDC). Sendo o melhor método de controle de qualidade em formulações de uso tópico.⁸

O método de Franz é o mais utilizado para verificar a absorção *in vitro* de formulações tópicas, como géis, cremes, pomadas, loções e sistemas transdérmicos. As células por difusão de Franz estudam a permeação cutânea de formas farmacêuticas semissólidas na pele.

Nesse método é utilizado uma célula de difusão vertical, contendo um compartimento doador e outro receptor, separados pela amostra de membrana. A fórmula foi aplicada sobre a pele de porco, que possuía a epiderme e a derme. O método se caracteriza pela utilização de células de difusão, onde o ativo passa através da membrana por difusão, para a solução receptora, na qual foi realizada a delimitação analítica do conteúdo do ativo permeado por meio do tempo.⁹

As análises foram realizadas em triplicata nos laboratórios de Química da Universidade do Vale do Taquari - Univates. A solução receptora foi feita com a proporção de 1:1 de água e álcool: 250ml de água purificada + 250ml de álcool. A solução receptora utilizada no estudo tinha 17 mL no máximo dentro da célula de Franz. No compartimento do doador foi aplicado 0,2g do veículo contendo o extrato



glicólico. Durante o experimento nos laboratórios, a luminosidade também foi controlada para que não houvesse interferência. O tempo padronizado foi de 15 minutos e 30 minutos.

3.4 PERMEAÇÃO CUTÂNEA IN VITRO

Após a retirada da solução receptora nos tempos 15 minutos e 30 minutos, ela foi acondicionada em frasco âmbar para que a luminosidade não interferisse no resultado. As amostras foram analisadas em triplicatas no espectrofotômetro UV, em comprimento de onda de 517 nm.¹⁰

3.5 TESTES ORGANOLÉPTICOS

Os ensaios organolépticos foram os métodos empregados para verificar as características das formulações, através dos órgãos do sentido, como o aspecto, cor, odor e tato. Este método analisa o estado do produto de maneira rápida e de fácil percepção em casos de alterações, como separação de fases, precipitação e turvação.⁶

3.6 TESTES FÍSICO-QUÍMICOS

3.6.1 Teste de centrífuga

O teste de centrífuga causou estresse no produto, reproduzindo um aumento na força de gravidade, elevando a mobilidade das partículas e acelerando prováveis instabilidades. As mudanças foram analisadas na forma de precipitação, separação de fases, formação de sedimento compacto (caking) e coalescência.⁶

O teste foi realizado com 30g da amostra analisada, onde a amostra foi submetida à centrífuga com 3.000 rpm durante 30 minutos. O teste de centrifugação analisa mudanças nas formulações antes de serem realizados os ensaios de estabilidade.¹¹

3.6.2 Testes de estabilidade acelerada

O teste de estabilidade acelerada é um controle de qualidade importante para avaliar a eficácia, segurança e qualidade do produto. Esse teste indica o grau de estabilidade da formulação em diferentes condições ambientais que afetam o produto desde a sua fabricação até o prazo de validade. Segundo a RDC n.º 318 de 2019, este parâmetro analisa as alterações químicas, físicas e microbiológicas de formulações em estado forçado de armazenamento, auxiliando na determinação do prazo de validade do produto. Este teste analisa o tempo de vida útil e a compatibilidade do produto com o seu material de armazenamento. As formulações foram armazenadas em diferentes temperaturas, para avaliar as suas características em diferentes ambientes que possam ser expostos. O período da avaliação da estabilidade varia conforme as especificações da fórmula, os ativos e conservantes utilizados.¹²



Em função do tempo disponível para a realização dos testes, o teste de estabilidade teve duração de 60 dias, devido ao tempo disponível após a preparação das formulações e o desenvolvimento do teste de permeação cutânea. Para a realização dessa pesquisa as amostras foram armazenadas na temperatura ambiente/bancada (20 °C - 25 °C), temperatura de estufa (40 °C) e temperatura de geladeira (5 °C). Os tempos usados neste estudo de estabilidade será inicialmente no tempo zero, dias sete, 15, 30 e 60. Os parâmetros analisados foram as características organolépticas, os testes físico-químicos (pH, densidade, espalhabilidade e centrifugação) e o teste microbiológico realizado no tempo zero, logo após a produção, todos os testes físico-químicos e microbiológicos foram realizados em triplicata.¹³

3.6.3 pH

A determinação do pH é por potenciometria, onde o eletrodo é imerso na amostra para determinar a atividade dos íons de hidrogênio. A escala dos valores 1 à 14 determina a acidez ou a alcalinidade de uma formulação, no qual quanto mais próximo do 1 mais ácido e quanto mais próximo do 14 mais alcalino, sendo que o valor 7 é considerado pH neutro. Para a determinação do pH foi utilizado um equipamento chamado pHmetro. Antes da utilização do equipamento é indispensável realizar a limpeza e verificar a sensibilidade do eletrodo, por soluções tampão de referência.⁶

Em formulações semissólidas a medição não é realizada direto no produto, foi preparado uma solução aquosa a 10% (1:10). Os valores não devem variar mais do que 0,05 unidades de pH em três leituras consecutivas. Às três leituras consecutivas com a diferença de 0,05 foram somadas e divididas por três para obter a média.¹⁴

3.7 DENSIDADE

A densidade é a relação entre a massa e o volume do produto a ser analisado. A densidade das formulações foram medidas no picnômetro metálico, o mais adequado para utilizar em formulações semissólidas e viscosas.⁶

Nesse método foi pesado o picnômetro vazio e anotado o seu valor (M0). Logo após foi colocado água Milli-Q até transbordar e colocado a tampa, fazendo com que extravase a água pelo orifício localizado na tampa, cuidando para não gerar bolhas. Após foi seco e pesado novamente e anotado o seu valor (M1). Em seguida, foi esvaziado o picnômetro e secado ele com cuidado, para depois colocar a amostra, fazendo com que ela extravase quando colocado a tampa. Foi seco ele, pesado e anotado o valor (M2).⁶

Para finalizar, foi aplicado a seguinte fórmula com os valores obtidos conforme a Figura 1.



Figura 1. Cálculo densidade

$$d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

Fonte: Brasil (2008, p. 36).

Onde: d = densidade

M0 = massa em gramas do picnômetro vazio

M1 = massa em gramas do picnômetro com água Milli-Q

M2 = massa em gramas do picnômetro com a amostra

Temperatura de análise da densidade = 20 °C

3.8 ESPALHABILIDADE

A espalhabilidade é a medida empírica, descrita por KNORST em 1991, onde determina a capacidade da formulação espalhar mediante uma força que é aplicada. Objetivando diminuir o esforço tangencial realizado ao aplicar a formulação na pele.¹⁵

Para a realização do teste foi utilizado uma placa molde circular de vidro, com orifício no centro da placa contendo 1,20 cm de diâmetro. Essa placa circular foi colocada em cima de uma placa suporte de vidro (20 cm x 20 cm). Na parte superior da placa quadrada possui uma folha de papel milimetrado, com fonte luminosa. A amostra a ser analisada foi colocada no orifício da placa circular e nivelada com o auxílio de uma espátula. Em seguida a placa molde foi retirada com cuidado e colocada uma placa de vidro sobre a amostra com o peso pré-determinado. Para cada placa adicionada foi anotado a medição do diâmetro em duas posições contrárias e o peso da placa. As placas de vidros foram adicionadas até atingir um valor constante. O intervalo para a adição de cada placa é de 1 minuto no mínimo.⁶

A espalhabilidade foi calculada através da seguinte equação:

$$E_i = (d^2 \times \pi) / 4$$

E = espalhabilidade da amostra de peso i

d = diâmetro médio (mm)

3.9 TESTE MICROBIOLÓGICOS

O teste microbiológico identifica contaminação microbiana de um produto, analisando alterações com propriedades físicas e químicas, buscando encontrar indícios de risco de infecção para o usuário. Este teste é realizado em formulações de uso oral e tópico, não estéreis. Para a análise de



contaminação microbiológica, deve ser considerado os limites microbianos aceitáveis para cada ativo ou formulação.¹⁶

A avaliação microbiológica foi realizada pelo método de contagem de número total de microrganismos mesófilos, através da determinação de fungos e bactérias, foi utilizado os seguintes meios de cultura: caseína-soja propício para crescimentos de bactérias (Tabela 3) e o ágar sabouraud-dextrose propício para o crescimento de fungos (Tabela 4).

Tabela 3. Formulação do meio de cultura caseína-soja

Meio de cultura caseína-soja		
Tryptic soy agar		40g
Água purificada		1000 mL

Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010, texto digital).

Tabela 4. Formulação do meio de cultura ágar sabouraud-dextrose

Meio de cultura ágar sabouraud-dextrose	
Sabouraud dextrose agar	65g
Água purificada	1000mL

Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010, texto digital).

Para a diluição da amostra foi preparado uma solução tampão de cloreto de sódio-peptona com o pH 7,0 (Tabela 5).

Tabela 5. Formulação da solução tampão de cloreto de sódio-peptona

Solução Tampão cloreto de sódio-peptona, pH 7,0	
Fosfato de potássio monobásico	3,6g
Fosfato dissódico di-hidratado	7,2g
Cloreto de sódio	4,3g



Peptona (carne ou caseína)	1,0g
Água purificada	1000mL

Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010, texto digital).

O teste microbiológico foi realizado em capela de fluxo laminar em triplicata para cada diluição. Para a diluição das 2g da amostra foi utilizado 20 mL da solução tampão em torno de 45 °C. As diluições realizadas foram 1:10, 1:100, 1:1000. As placas de petri foram devidamente identificadas, onde foram preparadas três placas brancas para cada amostra, sendo um para cada meio de cultura. O tampão e os meios foram esterilizados em autoclave usando ciclo validado. Em cada placa foi transferido 1 mL da amostra diluída e colocado meio de cultura até cobrir a superfície (cerca de 20 mL). A temperatura do meio de cultura estava em torno de 45 °C.¹⁶

As placas foram tampadas quando o meio estava solidificado e após encaminhadas para sua respectiva estufa:

- Estufa à 35 °C - placas do meio de cultura caseína-soja;
- Estufa à 25 °C - placas do meio de cultura sabouraud;

O teste apresenta contagem visível de microrganismos em até 5 dias, em Ágar caseína-soja a 32,5 °C ± 2,5 °C e em até 7 dias, em Ágar Sabouraud-dextrose a 22,5 °C ± 2,5 °C.

3.10 ANÁLISE DE DADOS

Para comparação da permeação cutânea utilizou teste t para amostras pareadas, para análise entre os tempos nas mesmas concentrações. Entre concentrações diferentes, utilizou-se ANOVA seguida de Tukey.

As características organolépticas foram expressas por quadros e realizado análise descritiva. No teste de centrifugação foi realizada uma análise descritiva dos resultados.

Para comparação de pH e densidade nos diferentes tempos e concentrações utilizou-se ANOVA, seguida de Tukey utilizando-se o software JAMOVI.¹⁷ Para a espalhabilidade utilizou-se estatística descritiva. E os testes microbiológicos foram expressos por quadros e realizado análise descritiva.

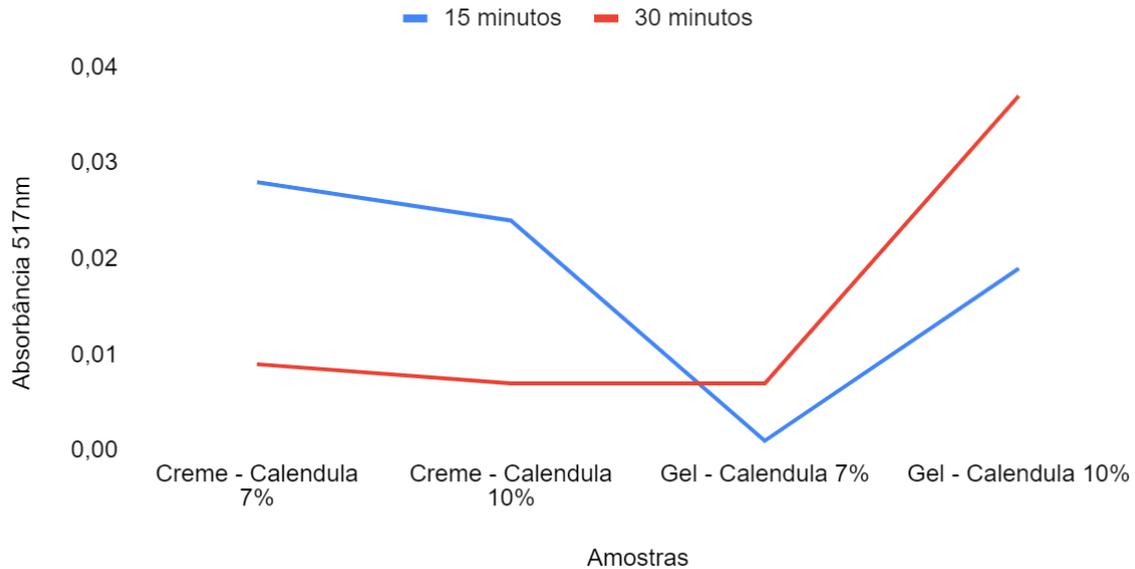
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 TESTES DE PERMEACÃO

Com os testes de permeação cutânea realizados, notou-se que a amostra de gel de *C. officinalis* a 10% no tempo de 30 minutos possui melhor permeação em relação ao gel de *C. officinalis* a 7% e ao creme de *C. officinalis* a 7% e 10%, conforme demonstra a Gráfico 1.



Gráfico 1. Variação do valor de absorbância no teste de permeação cutânea



Fonte: Da autora (2023).

Os resultados de absorbância indicam que houve permeabilidade em todas as concentrações e formulações testadas.

O estrato córneo é considerado a maior barreira na absorção de ativos, pois é composto por lipídios, que formam camadas, assim, dificultando a difusão de substâncias e por conta disso há pouca permeabilidade cutânea. Quando o ativo passa pelo estrato córneo, o ativo pode penetrar camada por camada, os lipofílicos em maior grau e os hidrofílicos em menor grau.¹⁸

Com a análise estatística foi possível observar que todas as amostras apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) no teste de permeação, considerando os tempos, as concentrações e formulações. Nas amostras de gel de *C. officinalis*, a 7% e 10% a permeabilidade das amostras foi superior em 30 minutos. Já as amostras de creme de *C. officinalis* a 7% e 10% a permeabilidade foi superior em 15 minutos.

A utilização de produtos por via tópica possui melhor adesão do paciente, sendo um método não invasivo e indolor na maioria das vezes, além disso, o produto não será submetido ao metabolismo de primeira passagem e há menos efeitos colaterais em relação a outras vias de administração. Porém, uma pequena quantidade de ativo irá atingir o tecido alvo, sendo que a maioria é desperdiçada, devido à impermeabilidade parcial da pele.¹⁹ Assim, o produto deve apresentar equilíbrio hidrófilo-lipófilo, para eficiente permeação pela via cutânea.²⁰

A via transdérmica é uma via que vem sendo muito utilizada devido ao desenvolvimento de fármacos e cosméticos com ação sistêmica, onde o ativo é absorvido pela corrente sanguínea. Para acontecer essa permeação, tem se utilizado alguns aliados nas formulações, como tensoativos, pares



iônicos e lipossomas, ou até mesmo, álcool e ácidos graxos. As características físico-químicas das formulações e dos ativos são fatores determinantes para a absorção cutânea.²¹

Zampieri, em seus estudos com genisteína, utilizando como veículo o gel e emulsão, observou maior permeação cutânea significativa do gel em relação à emulsão. O método utilizado no estudo também foi o de células de Franz, utilizando pele suína, porém o tempo padronizado para a coleta da solução receptora e análise foi 24 horas.²²

Com o resultado obtido nas análises é possível observar que o veículo utilizado nas formulações pode alterar as características do estrato córneo, assim, influenciando na permeação dos ativos na pele. Em estudo é possível observar que o veículo utilizado nas formulações altera a permeação dos ativos na pele, alterando a hidratação cutânea e o perfil de permeabilidade.²³

Ao final do estudo, verificou-se que houve maior permeação do gel se associada às outras bases manipuladas, por conta de sua formulação ser mais aquosa. Assim, observa-se que as bases farmacêuticas influenciam diretamente na permeação de ativos na pele.

4.2 TESTES ORGANOLÉPTICOS

As amostras foram colocadas em estudo de estabilidade, as quais apresentaram as características organolépticas contidas no Quadro 1, 2, 3 e 4.

Quadro 1. Creme - *C. officinalis* 7%

Condição	Tempo (dias)	Características organolépticas
Amostra Padrão	0	Creme homogêneo liso e brilhoso, com coloração marrom-claro e odor característico
Ambiente	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	15	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	30	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	60	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	15	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	30	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	60	Creme homogêneo liso e levemente opaco, com coloração marrom-claro e odor característico
Estufa	7	Permaneceu igual à amostra padrão



Estufa	15	Creme com coloração mais escura na superfície e o restante com coloração mais clara e odor característico
Estufa	30	Creme contendo bolhas de ar, gotas de água, superfície mais clara que o restante do creme e o odor levemente alterado
Estufa	60	Creme contendo bolhas de ar, gotas de água, superfície mais clara que o restante do creme e o odor levemente alterado

Fonte: Da autora (2023).

Quadro 2. Creme - *C. officinalis* 10%

Condição	Tempo (dias)	Características organolépticas
Amostra Padrão	0	Creme homogêneo liso e brilhoso, com coloração marrom-claro e odor característico
Ambiente	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	15	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	30	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	60	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	15	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	30	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	60	Creme homogêneo liso e levemente opaco, com coloração marrom-claro e odor característico
Estufa	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Estufa	15	Creme com coloração mais escura na superfície e o restante com coloração mais clara e odor característico
Estufa	30	Creme contendo bolhas de ar, gotas de água, superfície mais clara que o restante do creme e o odor levemente alterado
Estufa	60	Creme contendo bolhas de ar, gotas de água, superfície mais clara que o restante do creme e o odor levemente alterado

Fonte: Da autora (2023).

Em ambas as formulações de cremes é possível observar que as características organolépticas se mantiveram estáveis em temperatura ambiente (20 °C - 25 °C) em todo o tempo do estudo. As amostras submetidas ao ciclo de geladeira se mantiveram estáveis no dia 7, 15 e 30, porém no dia 60 apresentaram-se levemente opacas.

As amostras de cremes submetidas à estufa (40 °C), começaram a apresentar alterações a partir do dia 15, com coloração mais escura na superfície e o restante com coloração mais clara e odor característico. No dia 30 as amostras apresentaram bolhas de ar, gotas de água, superfície mais clara



que o restante do creme e o odor levemente alterado, se mantendo essas mesmas características no dia 60.

Quadro 3. Gel - *C. officinalis* 7%

Condição	Tempo (dias)	Características organolépticas
Amostra Padrão	0	Gel homogêneo e brilhoso, com coloração marrom e odor característico
Ambiente	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	15	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	30	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	60	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	15	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	30	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	60	Permaneceu igual à amostra padrão
Estufa	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Estufa	15	Gel contendo gotas de água na superfície, coloração marrom e odor levemente alterado
Estufa	30	Gel contendo bolhas de ar, com gotas de água na superfície, coloração marrom e odor levemente alterado
Estufa	60	Gel contendo bolhas de ar, com gotas de água na superfície, coloração marrom e odor levemente alterado

Fonte: Da autora (2023).

Quadro 4. Gel - *C. officinalis* 10%

Condição	Tempo (dias)	Características organolépticas
Amostra Padrão	0	Gel homogêneo e brilhoso, com coloração marrom e odor característico
Ambiente	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	15	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	30	Permaneceu igual à amostra padrão
Ambiente	60	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	15	Permaneceu igual à amostra padrão
Geladeira	30	Permaneceu igual à amostra padrão



Geladeira	60	Permaneceu igual à amostra padrão
Estufa	7	Permaneceu igual à amostra padrão
Estufa	15	Gel contendo gotas de água na superfície, coloração marrom e odor levemente alterado
Estufa	30	Gel contendo bolhas de ar, com gotas de água na superfície, coloração marrom e odor levemente alterado
Estufa	60	Gel contendo bolhas de ar, com gotas de água na superfície, coloração marrom e odor levemente alterado

Fonte: Da autora (2023).

Em ambas as formulações de géis é possível observar que as características organolépticas se mantiveram estáveis em temperatura ambiente (20 °C - 25 °C) e em geladeira (5 °C), em todo o tempo do estudo.

As amostras de géis submetidas à estufa (40 °C), começaram a apresentar alterações a partir do dia 15, contendo gotas de água na superfície, coloração marrom e odor levemente alterado. No dia 30 as amostras apresentaram bolhas de ar, com gotas de água na superfície, coloração marrom e odor levemente alterado, se mantendo essas mesmas características no dia 60.

As alterações de odor das formulações de cremes e géis, levemente alterados, podem ser resultantes da própria embalagem onde as amostras estavam armazenadas, já que eram de plástico.

Quando os produtos são submetidos a temperatura extrema, é aceitável ocorrerem pequenas alterações no aspecto do produto, porém não é aceitável mudanças extremas, como o creme mudar seu aspecto para líquido. Para a variação de cor e odor é recomendado que permaneçam conforme a amostra padrão. O sensorial do produto é um fator determinante em formulações semissólidas, determinando se o produto será aceito ou não pelo consumidor, sendo analisado através das características organolépticas.²⁴

As características organolépticas do produto podem sofrer alterações dependendo do local que está armazenada, como, por exemplo, recipientes de plástico ou vidro. O recipiente de plástico pode sofrer alterações, devido à fixação de calor, resistência térmica e permeação de oxigênio. Quando acontece essa incompatibilidade entre o produto e a embalagem, pode ocorrer separação de fases e precipitação do produto, levando até mesmo a mudança de pH.²⁵

É possível observar que ambos os cremes e ambos os géis, independente da concentração do extrato glicólico de *C. officinalis*, apresentaram as mesmas características organolépticas.

Em estudo realizado com cremes e géis contendo extrato de semente uva, por 60 dias, observam-se alterações nas características organolépticas também a partir do dia 15 de análise na amostra de estufa, intensificando-se no dia 30 e permanecendo estável até o dia 60. O estudo submeteu o produto a testes de instabilidade em temperatura ambiente, geladeira e estufa. O estudo foi realizado



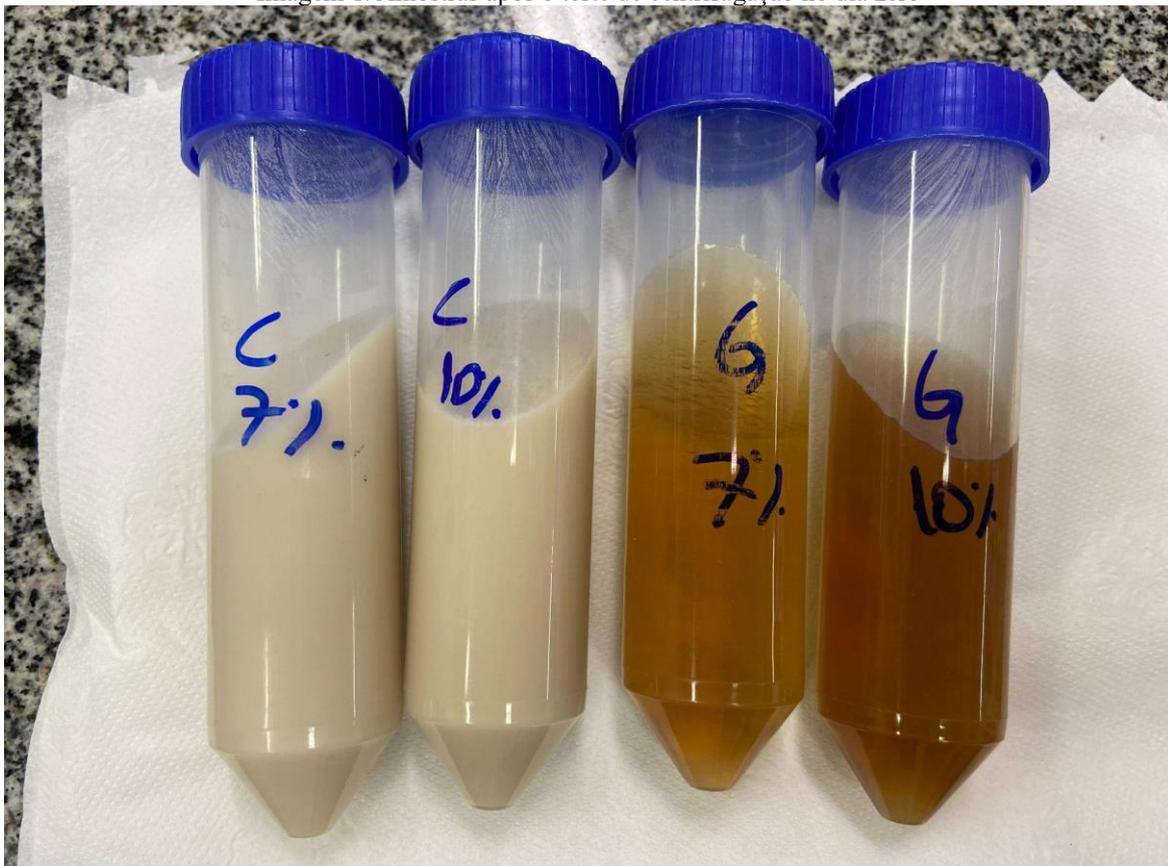
também com quatro formulações distintas, duas de creme e duas de gel, em duas concentrações diferentes do extrato.²⁶

4.3 TESTES FÍSICO-QUÍMICOS

4.3.1 Teste de centrifuga

Após teste de centrifugação, os produtos permaneceram estáveis e sem separação de fases (Imagem 1).

Imagem 1. Amostras após o teste de centrifugação no dia zero



Fonte: Da autora (2023).

Conforme o Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos da Anvisa, o teste de centrifugação é responsável por causar estresse na amostra, aumentando a circulação de partículas, assim, antecipando algumas instabilidades, consistindo na força da gravidade sobre a formulação. As alterações podem ser observadas por meio de precipitação, coalescência, separação de fases e formação de sedimento compacto (caking), entre outras.⁶

O teste de centrifugação é responsável por identificar possíveis instabilidades químicas e físicas que possam prejudicar os produtos. Em estudo realizado com gel e creme com produto de origem natural, ambos se mostraram estáveis, sendo submetido posteriormente a estudos de estabilidade.²⁷



4.3.2 pH

As amostras de referência/dia 0 dos cremes apresentaram valores de pH dentro das variações permitidas segundo o manual de Gestão Farmacotécnica

Magistral, já as amostras de referência dos géis não apresentaram valores dentro do padrão permitido segundo o manual de Gestão Farmacotécnica Magistral, necessitando de ajuste no pH, conforme os valores contidos na Tabela 6, 7 e 8.²⁸

A amostra que apresentou menor variação estatística dos valores de pH nas diferentes condições de armazenamento foi a do gel a 7%. Em temperatura ambiente e na estufa o gel a 7% apresentou maior estabilidade, porém, quando armazenadas na geladeira todas as formulações apresentaram variações estatisticamente significativas.

Tabela 6. Valores da média e desvio padrão do pH em temperatura ambiente das amostras de creme e gel de *C. officinalis* a 7% e 10% no dia zero, 7, 15, 30 e 60

Amostras - AMBIENTE	pH dia 0	pH dia 7	pH dia 15	pH dia 30	pH dia 60
Creme - Calendula 7%	6,99± 0,03a	6,88± 0,03b	7,04± 0,01c	7,13± 0,02d	6,84± 0,03e
Creme - Calendula 10%	6,66± 0,01a	6,74± 0,02b	6,95± 0,02c	7,04± 0,01d	6,66± 0,02e
Gel - Calendula 7%	7,62± 0,02a	8,00± 0,01b	7,99± 0,03b	7,97± 0,02b	7,59± 0,02c
Gel - Calendula 10%	7,71± 0,02a	7,53± 0,02b	7,97± 0,02c	7,64± 0,00d	7,34± 0,02e

Fonte: Da autora (2023).

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias das amostras.

Tabela 7. Valores da média e desvio padrão do pH em geladeira das amostras de creme e gel de *C. officinalis* a 7% e 10% no dia zero, 7, 15, 30 e 60

Amostras - GELADEIRA	pH dia 0	pH dia 7	pH dia 15	pH dia 30	pH dia 60
Creme - Calendula 7%	6,99± 0,03a	7,11± 0,03b	7,26± 0,02c	7,11± 0,02d	6,94± 0,00e
Creme - Calendula 10%	6,66± 0,01a	6,83± 0,03b	6,92± 0,00c	6,93± 0,03d	6,80± 0,00e
Gel - Calendula 7%	7,62± 0,02a	7,87± 0,03b	7,99± 0,03c	8,25± 0,01d	7,50± 0,03e
Gel - Calendula 10%	7,71± 0,02a	7,58± 0,00b	7,71± 0,02c	7,96± 0,01d	7,33± 0,02e

Fonte: Da autora (2023).

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias das amostras.



Tabela 8. Valores da média e desvio padrão do pH em estufa das amostras de creme e gel de *C. officinalis* a 7% e 10% no dia zero, 7, 15, 30 e 60

Amostras - ESTUFA	pH dia 0	pH dia 7	pH dia 15	pH dia 30	pH dia 60
Creme - Calendula 7%	6,99± 0,03a	7,15± 0,02b	6,56± 0,03c	6,78± 0,03d	6,78± 0,02d
Creme - Calendula 10%	6,66± 0,01a	6,56± 0,00b	6,35± 0,01c	6,61± 0,02d	6,51± 0,03e
Gel - Calendula 7%	7,62± 0,02a	7,91± 0,02b	7,93± 0,01b	7,80± 0,03c	7,84± 0,02c
Gel - Calendula 10%	7,71± 0,02a	7,55± 0,02b	7,51± 0,01b	7,66± 0,02c	7,46± 0,02d

Fonte: Da autora (2023).

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias das amostras.

Segundo o manual de Gestão Farmacotécnica Magistral as formulações que possuem como base o creme aniônico, a variação de pH indicado é de 6,0 a 7,0. Para formulações que utilizam a base de gel de carbopol a recomendação é de uma faixa de pH entre 6,0 a 7,0.²⁸

As amostras armazenadas em temperatura ambiente apresentaram na maioria das formulações e tempos variação estatisticamente significativa, com exceção do gel de *C. officinalis* a 7% que não houve alteração significativa entre o dia 7 ao dia 30. Já todas as amostras armazenadas na geladeira apresentaram variação estatisticamente significativa. As amostras armazenadas na estufa variaram nos resultados estatísticos, sendo o creme a 7% apresentando estabilidade somente do dia 30 ao dia 60, o creme a 10% apresentou variação estatística em todos os tempos, já o gel a 7% apresentou estabilidade entre o dia 7 ao dia 15 e entre o dia 30 ao dia 60, e o gel a 10% apresentou estabilidade entre o dia 7 ao dia 15.

A pele fisiológica apresenta um pH levemente ácido (4,0 - 6,5), se alterando conforme o gênero, local e idade. O pH de uma formulação semissólida é um fator essencial para sua eficácia e segurança, contribuindo para proteção bactericida e fungicida na superfície da pele, sendo as formulações com pH ácido com melhor permeação cutânea, pois estão menos ionizadas, provocando menos irritação na pele. Formulações com o pH entre 4,0 e 8,0 são menos inócuas para a pele.²⁹

O Guia Prático da Farmácia Magistral recomenda que formulações semissólidas com valores de pH fora do padrão esperado, devem ser corrigidas com agente corretor de pH quando necessário.³⁰ No caso das formulações desenvolvidas no presente estudo, seria recomendado sua correção com solução de ácido cítrico para ajuste do pH e favorecimento da permeação cutânea.

Quando ocorre elevadas alterações de pH em formulações a indicativa é de degradação de compostos no produto, comprometendo assim a sua eficácia e segurança ao decorrer do tempo. Sendo assim, testes de estabilidade em formulações semissólidas são indispensáveis para analisar parâmetros



físico-químicos e estabilidade de ativos em diferentes veículos. Para um produto se manter estável, as alterações de pH devem ser pequenas no tempo de armazenamento, não oscilando muito do pH no tempo 0, pois a estabilidade de produtos está relacionada a elevadas variações de pH.³¹

Em estudo de estabilidade, realizado com extrato glicólico de *C. officinalis* por 60 dias, utilizando uma emulsão desenvolvida com cera autoemulsionante não-iônica (Polawax), apresentou instabilidade, não suportando grandes variações de temperatura, apresentando alterações do pH. A utilização da cera no desenvolvimento de emulsões é difícil, pois durante todos os testes de pH variaram, não suportando alterações de temperatura, assim a forma de armazenamento e transporte influenciam na estabilidade e nos testes físico-químicos dos produtos contendo extrato glicólico de *C. officinalis* em emulsões não-iônicas.³²

As amostras de cremes apresentaram variação estatisticamente significativa em praticamente todas as condições de armazenamento, porém a variação desses valores não é significativa quando se refere ao padrão estabelecido que retardam alterações nos parâmetros do produto. Já os géis apresentaram menor variação estatisticamente significativa se comparado às amostras dos cremes, não alterando a estabilidade do produto, porém necessita de correção de valores de pH, assim, favorecendo ainda mais a permeação do produto.¹³

4.4 DENSIDADE

As formulações de referência/dia 0 dos cremes e dos géis apresentaram valores das análises de densidade dentro do padrão permitido segundo o Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos, conforme os valores contidos na Tabela 9, 10 e 11.⁶

As amostras analisadas não tiveram alterações estatisticamente significativas na maioria das formulações e tempos nas análises de densidade. Sendo a formulação de gel de *C. officinalis* a 10%, a única formulação, sem alteração estatística quando armazenadas em temperatura ambiente e na geladeira, apresentando alteração apenas entre os dias 7 e 15 na estufa.

Tabela 9. Valores da média e desvio padrão da densidade em temperatura ambiente das amostras de creme e gel de *C. officinalis* a 7% e 10% no dia zero, 7, 15, 30 e 60

Amostras - AMBIENTE	densidade dia 0	densidade dia 7	densidade dia 15	densidade dia 30	densidade dia 60
Creme - Calendula 7%	0,876± 0,00a	0,861± 0,00a	0,862± 0,00a	0,912± 0,00b	0,901± 0,01b
Creme - Calendula 10%	0,903± 0,00a	0,853± 0,00b	0,860± 0,01b	0,908± 0,01c	0,915± 0,00c
Gel - Calendula 7%	0,998± 0,00a	0,972± 0,00b	0,996± 0,01c	0,979± 0,02c	0,980± 0,00c



Gel - Calendula 10%	0,975± 0,00a	0,970± 0,00a	0,976± 0,00a	0,975± 0,01a	0,984± 0,01a
---------------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------

Fonte: Da autora (2023).

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias das amostras.

Tabela 10. Valores da média e desvio padrão da densidade em geladeira das amostras de creme e gel de *C. officinalis* a 7% e 10% no dia zero, 7, 15, 30 e 60

Amostras - GELADEIRA	densidade dia 0	densidade dia 7	densidade dia 15	densidade dia 30	densidade dia 60
Creme - Calendula 7%	0,876± 0,00a	0,865± 0,01a	0,853± 0,00a	0,879± 0,00b	0,920± 0,05b
Creme - Calendula 10%	0,903± 0,00a	0,940± 0,01b	0,894± 0,01c	0,926± 0,01d	0,843± 0,01e
Gel - Calendula 7%	0,998± 0,00a	1,02± 0,03a	0,970± 0,01b	0,986± 0,01c	0,957± 0,01c
Gel - Calendula 10%	0,975± 0,00a	0,977± 0,00a	0,977± 0,00a	0,991± 0,01a	0,993± 0,01a

Fonte: Da autora (2023).

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias das amostras.

Tabela 11. Valores da média e desvio padrão da densidade em estufa das amostras de creme e gel de *C. officinalis* a 7% e 10% no dia zero, 7, 15, 30 e 60

Amostras - ESTUFA	densidade dia 0	densidade dia 7	densidade dia 15	densidade dia 30	densidade dia 60
Creme - Calendula 7%	0,876± 0,00a	0,876± 0,00a	0,871± 0,00a	0,878± 0,01a	0,917± 0,00b
Creme - Calendula 10%	0,903± 0,00a	0,903± 0,00a	0,883± 0,00b	0,938± 0,01c	0,916± 0,01c
Gel - Calendula 7%	0,998± 0,00a	0,998± 0,00a	0,983± 0,01b	0,990± 0,00b	0,986± 0,00b
Gel - Calendula 10%	0,975± 0,00a	0,975± 0,00a	0,959± 0,00b	0,975± 0,01b	0,969± 0,01b

Fonte: Da autora (2023).

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias das amostras.

Em temperatura ambiente o creme a 7% apresentou alteração estatística somente entre os dias 15 e 30, se mantendo sem alterações nos demais tempos, já o creme a 10% apresentou alterações entre os dias 0 e 7 e os dias 15 e 30. O gel a 7% apresentou alterações entre os dias 0 e 7, 7 e 15, se estabilizando no restante dos outros tempos, já o gel a 10% se manteve sem alterações estatísticas em todos os tempos.

Quando armazenada na geladeira a amostra de creme a 7% apresentou alteração estatisticamente significativa entre os dias 15 e 30, se mantendo estável nos outros tempos e o creme



a 10% apresentou variação estatística em todos os tempos. O gel a 7% apresentou variação estatística entre os dias 7 e 15 e entre os dias 15 e 30 e o gel 10% não apresentou variação estatisticamente significativa em nenhum dos tempos.

Na estufa o creme a 7% apresentou variação estatisticamente significativa somente entre os dias 30 e 60, já o creme a 10% apresentou alterações entre os dias 7 e 15 e os dias 15 e 30. O gel a 7% e 10% apresentaram variação estatística somente entre os dias 7 e 15, se mantendo estável no restante dos tempos.

Segundo o Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos as formulações que possuem como base o creme aniônico, a variação de valores de densidade é de 0,85-0,95 g/mL. Para formulações que possuem como base o gel de carbopol a variação permitida é de 0,9-1,0 g/mL.⁶

Em estudo realizado com uma emulsão do tipo O/A vegana, contendo extrato oleoso de *C. officinalis* e extrato glicólico de *Chamomilla recutita*, a formulação foi submetida a testes de caracterização organoléptica e físico-química. Os testes de densidade no estudo foram realizados somente no dia 0, apresentando valores de densidade dentro do padrão estabelecido pelo Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos, densidade de $0,933 \pm 0,00$.³³

A densidade é um controle de qualidade que indica se houve incorporação de ar ou perda de insumos voláteis. As amostras na maioria dos tempos e condições de armazenamento, não apresentaram variação estatisticamente significativa, contudo, as poucas alterações que apresentaram não é significante quando se refere ao padrão estabelecido que retardam alterações nos parâmetros do produto.

4.5 ESPALHABILIDADE

Em todas as amostras de cremes e géis foi possível observar alterações estatisticamente significativas dos resultados dos testes de espalhabilidade se comparado aos diferentes tempos. Se comparado todos os tempos, temperaturas e amostras, observou-se que o creme de *C. officinalis* a 10% na estufa apresentou maior espalhabilidade. Porém, devido a alterações que o produto apresentou quando armazenado em estufa, não se considera adequado esta forma de armazenamento, portanto, a amostra que teve maior espalhabilidade em temperatura ambiente e na geladeira foi a formulação de gel de *C. officinalis* a 7%.

As amostras apresentaram resultados satisfatórios em relação a espalhabilidade, pois os valores aumentaram conforme os pesos/placas de vidro eram adicionadas.

Cada formulação apresentou resultados de espalhabilidade distintas em cada condição de armazenamento. O creme a 7% apresentou maior espalhabilidade quando acondicionado na geladeira no dia 60. Já o creme a 10% apresentou maior espalhabilidade na estufa no dia 7. O gel a 7% apresentou



maior espalhabilidade quando armazenado em temperatura ambiente e na geladeira no dia 30. Já o gel a 10% apresentou maior espalhabilidade quando armazenado em temperatura ambiente no dia 30.

Nas diferentes condições de armazenamento as amostras apresentaram valores de espalhabilidade distintas quando comparadas na estufa, geladeira e temperatura ambiente. Na temperatura ambiente e na geladeira o gel a 7% apresentou maior espalhabilidade, já quando as amostras são armazenadas na estufa, o creme 10% apresentou maior espalhabilidade.

Observa-se que todas as formulações não apresentaram continuidade em relação a espalhabilidade em suas condições de armazenamento e tempos, pois em alguns momentos os valores aumentaram e outros diminuíram, isso se deve a variação de temperatura do ar central do laboratório que estavam armazenados e também à variação de temperatura do frigobar que foi disponibilizado, por mais que sejam controladas e programadas as temperaturas.

A espalhabilidade é um controle de qualidade essencial em formulações semissólidas, indicando a relação entre a formulação com o local de ação na pele. Este teste indica se a formulação deve ser aplicada na pele em maior ou menor quantidade, levando em consideração a presença ou expansão da lesão. Formulações preparadas a frio possuem melhor espalhabilidade em comparação as formulações preparadas a quente.³⁴

Em estudo realizado com formulações de creme e gel contendo extrato hidroetanólico da calêndula, foi avaliada a espalhabilidade conforme a área obtida em relação ao peso aplicado, sendo que as amostras de gel apresentaram maior espalhabilidade em relação ao creme. Durante o período das análises as amostras se mantiveram estáveis e as características físico-químicas foram conservadas. No estudo foi observado que as amostras mantidas no refrigerador conservaram melhor suas características iniciais.³¹

A espalhabilidade de um produto é um fator determinante, pois está relacionado ao nível de aceitação do usuário e a adesão ao tratamento. A espalhabilidade é a capacidade do produto se espalhar sobre o local onde será aplicado e espera-se a ação. Um produto com baixa espalhabilidade apresenta alteração da dose de aplicação e alteração na permeação do ativo na pele, levando ao baixo nível de adesão pelos usuários.³⁵

4.6 TESTE MICROBIOLÓGICOS

Considerando que nesse estudo foram analisadas quatro formulações semissólidas em triplicata, verificando a contaminação microbiana logo após a manipulação das formulações, no tempo 0.

O quadro 5 apresenta os resultados da contaminação microbiana de bactérias e fungos nas amostras de cremes e géis contendo *Calendula officinalis L* em diferentes concentrações. Observou-se que todas as amostras apresentaram contaminação por bactérias e fungos no meio de cultura Caseína,



porém, no meio de cultura Sabouraud, somente as formulações dos cremes apresentaram crescimento de fungos, não possuindo crescimento de bactérias.

Quadro 5. Resultados das análises de contaminação de bactérias e fungos em meio de cultura caseína-soja e ágar sabouraud-dextrose.

AMOSTRA (tempo 0)	CASEÍNA	SABOURAUD
CREME 7% Bactérias	3,2 x 10 ² UFC/mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL (Est.)
CREME 7% Fungos	9,0 x10 ¹ UFC/mL	1,0 x10 ¹ UFC/mL
CREME 10% Bactérias	2,1 x 10 ² UFC/mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL (Est.)
CREME 10% Fungos	4,0 x10 ¹ UFC/mL	1,0 x10 ¹ UFC/mL
GEL 7% Bactérias	9,0 x10 ¹ UFC/mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL (Est.)
GEL 7% Fungos	3,0 x10 ¹ UFC/mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL (Est.)
GEL 10% Bactérias	3,8 x 10 ² UFC/mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL (Est.)
GEL 10% Fungos	5,0 x10 ¹ UFC/mL	< 1 X 10 ¹ UFC/ mL (Est.)

Fonte: Da autora (2023).

As amostras apresentaram contagem de bactérias dentro dos limites permitidos pela Farmacopéia Brasileira para produtos não estéreis de no máximo 1,0 x 10³ UFC de bactérias/g.¹⁴

As amostras também apresentaram contagem de fungos dentro dos limites microbianos aceitáveis pela Farmacopeia Brasileira que estabelece no máximo 1,0 x 10² UFC de fungos/g para produtos não estéreis.¹⁴

Diante disso, conforme os resultados dos testes microbiológicos, ambas as placas específicas para o crescimento de bactérias e de fungos, respectivamente, contendo a formulação, analisada no tempo 0, após a produção, não apresentaram crescimento de microrganismos fora dos padrões especificados.

Os testes microbiológicos de formulações não estéreis, determinam a presença microbiana limitada, devido à utilização do produto. Para minimizar os riscos de contaminação microbiana seria indicado que o produto viesse acompanhado de uma espátula para o contato mínimo do produto com as mãos, assim, conservando por mais tempo as características originais do produto, pois na maioria dos produtos cosméticos é identificado contaminação por micro-organismos.³⁶

Segundo a Farmacopéia Brasileira, o controle de qualidade e controle microbiano de produtos não estéreis devem estar dentro de limites seguros pré-estabelecidos para o consumidor. Os limites dentro do padrão aceitável são de 1,0 x 10³ UFC de bactérias/g e 1,0 x 10² UFC de fungos/g.¹⁴

No estudo de Soares e seus colaboradores verificou a presença de bactérias em amostras de cosméticos, no qual foram analisados seis produtos cosméticos, havendo crescimento bacteriano e fúngico em 75% das formulações manipuladas, enquanto as industrializadas não apresentaram



tamanho crescimento microbiano. O controle de qualidade adequado é essencial para garantir que o produto seja utilizado pelo consumidor de maneira eficaz e segura.³⁷

No estudo realizado por Borella, com gel de carbopol e base emulsionante aniônica, contendo insumo de origem natural, ocorreu crescimento microbiano em ambas as formulações, porém, dentro do limites estabelecidos pela legislação, garantindo a segurança microbiológica das formulações. No estudo foi padronizado duas bases distintas, gel de carbopol e creme aniônico, contendo papaína em diferentes concentrações, utilizada para cicatrização e desbridamento de feridas. As análises realizadas foram: pH, análise organoléptica, espalhabilidade, análise microbiológica, teste de centrifugação e atividade enzimática, para avaliar estabilidade, contaminação por micro-organismos e ação proteolítica.³⁸

Como a principal matéria-prima utilizada para produção das bases galênicas foi a água, sendo ela o principal contribuinte para o crescimento microbiano. Assim, como as formulações foram manipuladas seguindo as Boas Práticas de Fabricação, Rosa e seus colaboradores acreditam que as formulações que utilizam a água como sua principal matéria-prima, contribuindo assim, para o crescimento microbiano em formulações semissólidas. Outro fator que contribui para o crescimento microbiano, é a utilização do extrato glicólico, que é de origem natural, propício para o crescimento de micro-organismos.³⁹

5 CONCLUSÃO

Com o estudo foi possível verificar a forma farmacêutica e a concentração do extrato glicólico de calêndula que permeiam de forma mais eficiente na pele, identificando-se que o gel de *C. officinalis* a 10% obteve desempenho superior de permeação em 30 minutos se comparada às outras formulações e tempos.

Em relação às características organolépticas, as amostras de géis se mantiveram estáveis quando armazenadas em temperatura ambiente e na geladeira, somente as armazenadas na estufa apresentaram alterações.

No teste de pH a amostra que apresentou menor variação estatística significativa foi a amostra de gel de *C. officinalis* a 7%. No teste de densidade a amostra que não apresentou alterações estatisticamente significativa quando armazenadas em temperatura ambiente e na geladeira foi a de gel de *C. officinalis* a 10%, apresentando alteração apenas entre os dias 7 e 15 na estufa.

No teste de espalhabilidade observaram-se alterações estatísticas em todos os tempos, condições de armazenamento e formulações analisadas, porém, os resultados são satisfatórios, pois a espalhabilidade aumentou conforme os pesos/placas de vidro eram adicionadas nas amostras. A amostra de creme a 10% apresentou maior espalhabilidade quando armazenado na estufa, porém



quando armazenados em temperatura ambiente e na geladeira o gel a 7% apresentou maior espalhabilidade.

Todas as amostras apresentaram contagem de bactérias e fungos dentro dos limites microbianos estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira.

Diante dos resultados, pode-se concluir que a amostra de gel de *C. officinalis* a 10% é a mais adequada, pois apresentou melhor permeação cutânea e densidade, características organolépticas e contagem microbiológica adequada e boa espalhabilidade, porém, a única alteração apresentada foi referente aos valores de pH, necessitando de correção para favorecer ainda mais a permeabilidade do produto, já que produtos mais ácidos possuem melhor permeação cutânea.

Os estudos de estabilidade são considerados um importante padrão de segurança para o fabricante e consumidor que faz o uso destes produtos, contudo os estudos em formulações semissólidas contendo ativos de origem natural ainda são escassos. Deste modo, ratifica-se a necessidade de mais estudos sobre testes de permeação, físico-químicos e microbiológicos de formulações de uso tópico contendo ativos de origem natural.



REFERÊNCIAS

- Marta GN, Hanna SA, Silva JLF, Carvalho HA. Câncer de cabeça e pescoço e radioterapia: breve contextualização. *Diagn. Tratamento* [Internet]. 2011. [acesso em 2023 mai 15]; 16(3):134-136. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/1413-9979/2011/v16n3/a2416.pdf>.
- Andrade M, Clapis MJ, Nascimento TGdo, Gozzo TdeO, Almeida Made. Prevention of skin reactions due to teletherapy in women with breast cancer: a comprehensive review. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* [Internet]. 2012. [acesso em 2023 mai 15]; 20(3). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rlae/a/NKNhrwvRHPvNCF9Cht9VWbG/?lang=en>.
- Schneider F. Uso da calendula officinalis na prevenção e tratamento de radiodermite em cabeça e pescoço: ensaio clínico randomizado duplo cego. [dissertação] [Internet]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2012. [acesso em 2023 mai 15]. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/reensp/a/vd4BQr6R3NGfYb3vMzHQVPf/?format=pdf&ng=pt>.
- Andrade DMO. Uso dos cremes de camomila e calêndula na prevenção de radiodermatites: ensaio clínico randomizado duplo cego. [dissertação] [Internet]. Uberaba, MG: Universidade Federal do Triângulo Mineiro, 2021. [acesso em 2023 jun 13]. Disponível em: <http://200.131.62.27/handle/123456789/1181>
- Santos GA. Permeação cutânea do voriconazol a partir de nanossistemas lipídicos. [monografia] [Internet]. Brasília: Universidade de Brasília, 2015. [acesso em 2023 out 22]. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/13713/6/2015_GisellyAlmeidadosSantos.pdf.
- Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. [Internet]. Anvisa, Brasília, DF, 2.ed. 2008. [acesso em 2023 mai 15]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-controle-de-qualidade-de-produtos-cosmeticos.pdf/view>.
- Farmacopéia Brasileira. 5.ed. São Paulo: Anvisa, 2010. [acesso em 2023 mai 15]. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33832/260079/5%C2%AA+edi%C3%A7%C3%A3o+-+Volume+1/4c530f86-fe83-4c4a-b907-6a96b5c2d2fc>.
- Praça FSG. Liberação e permeação in vitro de produtos transdérmicos: um estudo metodológico de aparatos e de condições experimentais. [tese] [Internet]. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2010. [acesso em 2023 mai. 05]. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-10102010-215730/pt-br.php>.
- Almeida KAA, Amaral TA, Lyra TP. Uso potencial do pentravan para veiculação de eugenol por via transdérmica. [monografia] [Internet]. Pindamonhangaba, SP: Faculdade de Pindamonhangaba. 2014. [acesso em 2022 set 05]. Disponível em: <http://www.bibliotecadigitalfunvicpinda.org.br:8080/jspui/bitstream/123456789/262/1/AlmeidaAmaralLyra.pdf>.
- Dutra C, Bianchetti P, Stülp S. Avaliação da difusão e permeação cutânea in vitro de acetato de hidrocortisona tópica comercial. *Sci. Plena* [Internet]. 2013. [acesso em 2023 jun 13]; 9(10). Disponível em: <https://scientiaplenu.org.br/sp/article/view/1388>.
- Silva VHQ. Desenvolvimento e estudo de estabilidade preliminar de Creme multifuncional para o cuidado dos pés. [monografia] [Internet]. Brasília: Universidade de Brasília, 2017. [acesso em 2022 set 05]. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/23953/1/2017_VictorHugoQueirozSilva_tcc.pdf.



Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 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. [Internet]. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. 2019 nov. 07. [acesso em 2022 set 13]. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-318-de-6-de-novembro-de-2019-226513805>.

Brasil. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. [Internet]. Anvisa: Brasília, 1.ed., 52p., 2004. [acesso em 2022 set 14]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-estabilidade-de-cosmeticos.pdf/view>. Acesso em: 14 set. 2022.

Brasil. Farmacopeia brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [Internet]. Anvisa: Brasília, 6.ed. 1, 2016. [acesso em 2022 set 05]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/ptbr/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>.

Pessanha AFV, Goes AJS. Desenvolvimento de formas farmacêuticas semi-sólidas à base de óleo de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) com ação cicatrizante para tratamento e prevenção de úlceras de pressão. [dissertação] [Internet]. Recife, PE: Universidade Federal de Pernambuco, 2011. [acesso em 2022 set. 05]. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/3313>.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. [Internet]. Anvisa: Brasília, 5.ed. 1:236-240, 2010. [acesso em 2022 set 29]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/8000json-file-1>. Acesso em: 29 set. 2022.

Alves NC. Penetração de ativos na pele: revisão bibliográfica. [Internet]. Revista Amazônia Science & Health. 3(4):36-43., 2015. [acesso em 2023 mai 19]. Disponível em: <http://ojs.unirg.edu.br/index.php/2/article/view/852/387>.

Jamovi. The jamovi project. Jamovi, Version 2.2. [Computer Software]. [acesso em 2023 jun 16]. Disponível em: <https://www.jamovi.org>.

Antunes AFV. Sistemas nanoparticulados aplicados à dermocosmética. [dissertação] [Internet]. Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, 2016. [acesso em 2023 mai. 19]. Disponível em: <http://recil.ulusofona.pt/bitstream/handle/10437/6832/Disserta%C3%A7%C3%A3o.pdf?sequence=1>.

Stocco LS, Silva SF, Faria L G. Permeação Cutânea. In: II Simpósio de Assistência Farmacêutica. [Internet]. 2014. [acesso em 2023 mai. 19]. Disponível em: <http://www.saocamilo-sp.br/novo/eventos-noticias/saf/resumo-23.pdf>.

Soares M, Vitorino C, Sousa J, Pais A. Permeação cutânea: desafios e oportunidades. [Internet]. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. [Internet]. 2015 [acesso em 2023 mai 20]; 36(3):337-348. Disponível em: <http://seer.fcfa.unesp.br/rcfba/index.php/rcfba/article/viewFile/332/153>.

Zampieri ALTC. Desenvolvimento, caracterização e avaliação da permeação cutânea da isoflavona genisteína em nanocápsulas poliméricas. [tese] [Internet]. Goiânia, GO: Universidade Federal de Goiás, 2009. [acesso em 2023 mai. 20]. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tde/1561/1/tese%20ana%20lucia%20zampieri.pdf>.



Zambon APLB. Influência da associação de filtros solares sobre a estabilidade, liberação, permeação e retenção cutânea do p-metoxicinamato de octila em formulações fotoprotetoras. [dissertação] [Internet]. Araraquara, SP: Universidade Estadual Paulista- Júlio Mesquita Filho, 2011. [acesso em 2023 mai. 20]. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/89775/zambon_aplb_me_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Ladeira GD, Alves ASA, Mota DdosS, Rosa JÁ, Gomes, MGR, Tavares, RC *et al.* A importância dos estudos de pré-formulação na estabilidade dos produtos cosméticos. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*. [Internet]. 2021. [acesso em 2023 mai 20]; 7(12). Disponível em: <https://www.periodicorease.pro.br/rease/article/view/3555>.

Carvalho JGS. Estudo sobre formulações cosméticas naturais e princípios ativos de origem natural encontrados no Brasil. [monografia] [Internet]. Pato Branco, PR: Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), 2021. [acesso em 2023 mai 06]; Disponível em: <http://riut.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/27785/1/formulacoescosmeticasnaturais.pdf>.

Souza, VB, Ferreira JRN. Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca* L.). *Revista Ciência Farmacêutica Básica e Aplicada* [Internet]. 2010. [acesso em 2023 mai 06]; 31(3). Disponível em: <http://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/368>. Acesso em: 06 mai. 2023

Silva, FVF, Santos, MC, Neiva, LDB, Oliveira, MAC, Leal, BdeS, Moreira, FAdosS *et al.* Desenvolvimento e controle de qualidade de um gel-creme antiacneico a base do óleo da *Copaífera officinalis* L.(copaíba). *Revista Eletrônica Acervo Saúde* [Internet]. 2019. [acesso em 2023 mai 06]; 30e974. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/974/666>.

Conrado MFL, Cordeiro PCC, Cordeiro PPM. *Gestão Farmacotécnica Magistral*. 2.ed. 1. Balneário Camboriú: Basse; 2008.

Gonçalves JC. Nanotecnologia aplicada à pele. [dissertação] [Internet]. Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, 2014. [acesso em 2023 mai 13]. Disponível em: https://recil.ensinolusofona.pt/bitstream/10437/4719/1/Nano%20aplica_pele%20J_Gon%C3%A7alves.pdf.

Ferreira AO. *Guia Prático de Farmácia Magistral*. 4.ed. 1. Rev. e Ampl. - São Paulo: Pharmabooks; 2010.

Deuschle VCKN. Avaliação fitoquímica, capacidade antioxidante e fotoprotetora do extrato e formulações de *Calendula officinalis* L. [dissertação] [Internet]. Santa Maria, RS: Universidade Federal de Santa Maria, 2013. [acesso em 2023 mai 13]. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/6041/DEUSCHLE%2c%20VIVIANE%20CECILIA%20KESSLER%20NUNES.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Kotowy J, Marcondes FB, Silva TFBX, Lubi NC. Avaliação da estabilidade de emulsão desenvolvida com extratos de *Aloe vera* (*Aloe vera* L.), *Calêndula* (*Calendula officinalis* L.), *Camomila* (*Matricaria chamomilla* L.) e *Centella asiática* (*Centella asiática* L.). *Scientific Electronic Archives* [Internet]. 2020. [acesso em 2023 mai 13]; 13(10). Disponível em: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/916/pdf>.

Moraes, ALL. Desenvolvimento de formulação hidratante vegana contendo extratos de *Calendula officinalis* e *Matricaria chamomilla*. [monografia] [Internet]. Florianópolis, SC: Universidade Federal



de Santa Catarina, 2019. [acesso em 2023 mai 20]. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/202101>.

Borella JC, Ribeiro NS, Teixeira JCL, Carvalho DMA. Avaliação da espalhabilidade e do teor de flavonóides em forma farmacêutica semissólida contendo extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, [Internet]. 2010. [acesso 2023 maio 06]; 31:193-197. Disponível em: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/401>.

Rocco LC, Ikeda NS, Muller KdeTC, Mirandai MRA. Avaliação dos critérios de qualidade físico-químicos de creme-géis à base de ácido hialurônico adquiridos em farmácias magistrais do município de Campo Grande - MS. *Rev. colomb. ciência. quim. fazenda*. [Internet]. 2022. [acesso 2023 maio 22]; 51(3):1049-1064. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74182022000301049&lng=en.

Safa, LG. Controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos não estéreis. [monografia] [Internet]. Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 2012. [acesso em 2023 mai 06]. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-9ATJ8V/1/monografia_laura.final.pdf. Acesso em: 06 mai. 2023.

Soares GM, Santos LMdos, Onofre FR, Silva OS, Fabiao CD, Rocha ASR. Microbiologic quality of hand creams in Pelotas, Brazil. *Microbiologic quality of hand creams in Pelotas, Brazil*. 2015. *Academic Journals*. [Internet]. 2015. [acesso em 2023 mai 06]; 9(18):1275-1280. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/AJMR/article-abstract/B21652253184>.

Borella JC, Teixeira JCL, Puga RLA, Stevenato MCB. Formas farmacêuticas semissólidas a base de papaína: avaliação preliminar da estabilidade, contaminação microbiológica e atividade enzimática. *Visão Acadêmica*. [Internet]. 2018. [acesso em 2023 mai 07]; 19(02). Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/58223/36728>.

Rosa AM, Chang MR, Sposito FLE, Silva CGda, Miyagusku L, Sversut RA et al. Análise microbiológica de xampus e cremes condicionadores para uso infantil. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. [Internet]. 2015. [acesso em 2023 mai 07]; 36(1):43-49. Disponível em: <http://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/66/64>. Acesso em: 07 mai. 2023.