

Desenvolvimento e caracterização de micropartículas poliméricas contendo extrato de *Ruta graveolens* L. para veiculação em formulação de xampu infantil

Development and characterization of *Ruta graveolens* L. extract-loaded polymeric microparticles for vehicle in children's shampoo formulation

Desarrollo y caracterización de micropartículas poliméricas que contienen extracto de *Ruta graveolens* L. para vehículo en la formulación de champú infantil

Recebido: 08/12/2022 | Revisado: 29/12/2023 | Aceitado: 05/01/2023 | Publicado: 07/01/2023

Guilherme dos Anjos Camargo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3440-2791>

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

E-mail: guicamargo.gc@gmail.com

Jasmine Fernandes Carneiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9900-7787>

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

E-mail: mili987@hotmail.com

Luciane Mendes Monteiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2896-8147>

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

E-mail: lucianemendesmonteiro@gmail.com

Rosi Zanoni da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6734-9520>

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

E-mail: rosizanoni@bol.com.br

Patrícia Mazureki Campos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2659-8023>

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

E-mail: patimazureki@hotmail.com

Resumo

O objetivo do presente estudo foi desenvolver, caracterizar e quantificar micropartículas de poli(ϵ -caprolactona) contendo extrato de *Ruta graveolens* L. para posterior veiculação em um xampu infantil para o combate seguro da pediculose. O extrato hidroalcolólico foi obtido da planta seca através do método de turbólise. As micropartículas foram obtidas pelo método da emulsão simples seguida da evaporação do solvente modificando a proporção de extrato e polímero. Os sistemas poliméricos foram caracterizados por meio de estudos morfológicos e espectroscópicos. A eficiência de encapsulação foi verificada pelo método indireto de quantificação. Uma formulação de xampu infantil foi desenvolvida, verificando as características organolépticas e físico-químicas. As micropartículas poliméricas foram obtidas com sucesso pelo método escolhido e apresentaram um rendimento médio de 49,7% e eficiência de encapsulação acima de 82,26%. Os sistemas apresentaram formato esférico e borda lisa, tamanho médio entre 686,9 e 2973,6 nm, baixo índice de polidispersão e potencial zeta negativo. Os espectros de infravermelho demonstraram bandas distintas para os materiais isolados em comparação com as formulações de micropartículas. A formulação de xampu infantil desenvolvida apresentou coloração branca, fragrância e textura condizentes à formulação de xampu. A densidade encontrada foi de 1,0025 g/mL e viscosidade de 47,78 cP, enquanto o pH da formulação foi próximo ao pH lacrimal. Com isso, o presente estudo obteve com sucesso as micropartículas de PCL contendo o extrato de *R. graveolens* L. e desenvolveu de maneira eficaz uma formulação de xampu infantil para veicular as micropartículas como alternativa segura ao tratamento da pediculose.

Palavras-chave: Arruda; Ação piolhícida; Nanotecnologia; Poli(ϵ -caprolactona); Tecnologia de cosméticos.

Abstract

The aim of the present study was to develop, to characterize and to quantify *Ruta graveolens* L. extract-loaded poly(ϵ -caprolactone) microparticles for application in a children's shampoo for the safe combat of pediculosis. The hydroalcoholic extract was obtained from the dried plant through the turbolysis method. Microparticles were obtained by the emulsification solvent evaporation technique, modifying the proportion of extract and polymer. The polymeric systems were characterized through morphological and spectroscopic studies. The encapsulation efficiency was verified by the indirect method of quantification. A children's shampoo formulation was developed, verifying the

organoleptic and physical-chemical characteristics. The polymeric microparticles were successfully obtained by the chosen method and showed an average yield of 49.7% and encapsulation efficiency above 82.26%. The systems had a spherical shape and smooth edge, average size between 686.9 and 2973.6 nm, low polydispersion index and negative zeta potential. Infrared spectra demonstrated distinct bands for isolated materials compared to microparticle formulations. The developed children's shampoo formulation presented white coloration and fragrance and texture consistent with the shampoo formulation. The density found was 1.0025 g/mL and viscosity of 47.78 cP, while the pH of the formulation was close to the tear pH. Thus, the present study successfully obtained *R. graveolens* L. extract-loaded PCL microparticles and effectively developed a children's shampoo formulation for microparticles vehiculation to use as a safe alternative for the treatment of pediculosis.

Keywords: Cosmetic technology; Liceicidal action; Nanotechnology; Poly(ϵ -caprolactone); Rue.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue desarrollar, caracterizar y cuantificar micropartículas de poli(ϵ -caprolactona) cargadas con extracto de *Ruta graveolens* L. para su aplicación en un champú infantil para el combate seguro de la pediculosis. El extracto hidroalcohólico se obtuvo de la planta seca mediante el método de turbólisis. Las micropartículas se obtuvieron mediante la técnica de emulsificación por evaporación del solvente, modificando la proporción de extracto y polímero. Los sistemas poliméricos se caracterizaron mediante estudios morfológicos y espectroscópicos. La eficiencia de encapsulación se verificó por el método indirecto de cuantificación. Se desarrolló una formulación de champú infantil, verificando las características organolépticas y físico-químicas. Las micropartículas poliméricas se obtuvieron con éxito por el método elegido y mostraron un rendimiento promedio de 49,7 % y una eficiencia de encapsulación superior al 82,26 %. Los sistemas tenían forma esférica y borde liso, tamaño promedio entre 686,9 y 2973,6 nm, bajo índice de polidispersión y potencial zeta negativo. Los espectros infrarrojos demostraron bandas distintas para los materiales aislados en comparación con las formulaciones de micropartículas. La formulación de champú para niños desarrollada presentó coloración blanca y fragancia y textura consistente con la formulación de champú. La densidad encontrada fue de 1.0025 g/mL y la viscosidad de 47.78 cP, mientras que el pH de la formulación fue cercano al pH de la lágrima. Por lo tanto, el presente estudio obtuvo con éxito micropartículas de PCL cargadas con extracto de *R. graveolens* L. y desarrolló de manera efectiva una formulación de champú para la entrega de micropartículas para niños como una alternativa segura para el tratamiento de la pediculosis.

Palabras clave: Acción liceicida; Nanotecnología; Poli(ϵ -caprolactona); Ruda; Tecnología cosmética.

1. Introdução

A pediculose é uma doença presente na população, sendo considerada um problema de saúde pública. É provocada pela infestação no couro cabeludo, principalmente de crianças, de *Pediculus humanus capitis* (piolho), um ectoparasita obrigatório que desenvolve todo o seu ciclo de vida no ser humano, alimentando-se de sangue e causando intenso prurido. A infestação em crianças pode causar baixo desempenho escolar, dificuldade de concentração, distúrbios do sono e uma infestação severa pode causar até anemia. Sua transmissão acontece pelo contato direto com outros hospedeiros infectados ou por fômites de uso coletivo (Barbosa & Pinto, 2003; Heukelbach *et al.*, 2003; Rocha *et al.*, 2012; Garzoni & de Carvalho, 2021; de Oliveira *et al.*, 2022).

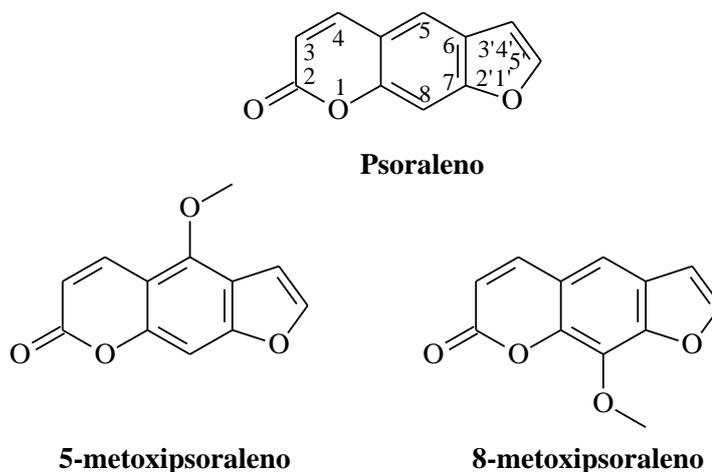
Estudos epidemiológicos apontaram que os casos de pediculose têm aumentado consideravelmente e, com isso, existe uma necessidade de se aprimorar as estratégias de tratamento. A indústria farmacêutica disponibiliza no mercado produtos tópicos à base de organofosforados e piretroides, entretanto, tem-se percebido que os piolhos estão criando resistência a esses ativos piolhídeos. Tal resistência se deve a mudanças genéticas dos parasitas que afeta a síntese de enzimas específicas, o que aumenta a necessidade do desenvolvimento de novos produtos para o tratamento da pediculose (Kovaliczn *et al.*, 2009; Moroni *et al.*, 2014). Dessa forma, o desenvolvimento de novos derivados oriundos de plantas medicinais mostra-se como alternativa viável e segura a esses produtos convencionais (Gomes *et al.*, 1999; Moroni *et al.*, 2014).

A *R. graveolens* L. ou arruda, como é conhecida popularmente, pertencente à família das Rutaceae. É originária do Mediterrâneo e está espalhada por todo território brasileiro. É uma planta aromática com odor característico e composição química baseada em furanocumarinas, derivados cumarínicos, alcaloides, aminoácidos, flavonoides, carboidratos, compostos fenólicos, esteroides, resinas, proteínas, taninos, glicosídeos e mucilagem. Apresenta propriedades antibacteriana, antiviral, antifúngica, inseticida, repelente, conservante, analgésica, sedativa, anti-inflamatória, anestésica e, a mais comumente

conhecida pela população, a ação piolhícida (Reis *et al.*, 2013; Bravo *et al.*, 2014; Ghramh *et al.*, 2020; Tovar *et al.*, 2020; Jianu *et al.*, 2021; Orlanda & Mouchrek, 2021).

Dentre as furanocumarinas que compõem a *R. graveolens* L., as principais são psoraleno, xantoxina, bergapteno e isopimpinellina. Dentre os psoralenos, o 5-metoxipsoraleno (5-MOP) e o 8-metoxipsoraleno (8-MOP), cujas estruturas químicas estão apresentadas na Figura 1, as quais apresentam natureza fototóxica, sendo o 8-MOP o de maior toxicidade. Os derivados psoralenos quando entram em contato com a pele e na presença de luz resultam em irritação cutânea severa (Reis *et al.*, 2013; Bravo *et al.*, 2014; Tovar *et al.*, 2020).

Figura 1 – Estruturas químicas do psoraleno, 5-metoxipsoraleno e do 8-metoxipsoraleno.



Fonte: Autores.

Com isso, devido a fototoxicidade provocada pela planta e para a viabilização da aplicação cutânea faz-se necessário o uso da nanotecnologia para o encapsulamento do extrato de *R. graveolens* L. e, com vistas a minimizar a irritação cutânea, evitando o contato direto com a pele.

Dentre os sistemas de liberação modificada de fármacos estão as micropartículas poliméricas, carreadores com tamanho entre 1 a 100 μm , formadas por invólucro polimérico em que o fármaco pode estar retido ou adsorvido na matriz polimérica, o que permite proteção e liberação controlada do material encapsulado, além de redução dos efeitos colaterais e da concentração farmacológica necessária do ativo para exercer a sua função terapêutica (Schaffazick *et al.*, 2003; Mendes, 2011; Severino *et al.*, 2011). As micropartículas constituem tecnologia inovadora capaz de modular o perfil de liberação de fármacos, melhorar a sua absorção e vetorizar para sítios específicos de ação (Rinaldi *et al.*, 2009).

Inúmeros polímeros podem ser utilizados para o desenvolvimento das micropartículas poliméricas, sendo um dos mais utilizados a poli(ϵ -caprolactona) (PCL). O PCL é um poliéster alifático sintético, biodegradável, biocompatível e bioabsorvível com subprodutos de decomposição de nenhuma toxicidade, o que justifica a grande utilização pela indústria farmacêutica em sistemas de liberação controlada. O PCL é um polímero semicristalino de degradação lenta sem provocar microambiente ácido, sendo considerado uma vantagem para o desenvolvimento de micropartículas (Rinaldi *et al.*, 2009; Vogelsager Jr *et al.*, 2004; Barboza, 2013; Mendes, 2011; Siqueira *et al.*, 2018; Camargo *et al.*, 2020).

Os produtos cosméticos e de higiene pessoal são formulações que podem ser compostas por substâncias naturais ou sintéticas com o objetivo de limpar e perfumar, sendo um dos produtos mais utilizados, o xampu. Os xampus, de uma forma geral, são compostos por tensoativos, estabilizantes de espuma, conservantes, espessantes, desengordurantes, reguladores de pH e veículo. O xampu sendo um produto cosmético pode ser classificado como grau de risco 1 ou 2, conforme composição,

funcionalidade ou público-alvo. De acordo com a legislação vigente, quando se trata de xampu de tratamento e aplicação em público infantil é classificado como grau de risco 2, o que exige comprovação de segurança e eficácia para haver a autorização sanitária para a comercialização. Ademais, por ser produto infantil, o pH final deve ser próximo ao pH lacrimal (aproximadamente 7,0) para evitar a irritabilidade ocular (Barbara *et al.*, 2007; da Motta *et al.*, 2007; Gomes, 2011; Chirolí *et al.*, 2013; Dias *et al.*, 2014; Brasil, 2018).

Portanto, considerando que a pediculose é uma doença que comumente afeta as crianças, os fármacos em uso já dão indícios de resistência pelo parasita e a literatura demonstrar que a planta medicinal *R. graveolens* L. possui ação piolhícida, os objetivos foram desenvolver, caracterizar e quantificar as micropartículas de PCL contendo o extrato hidroalcoólico de *R. graveolens* L. para posterior veiculação em uma formulação de xampu com composição química adequada para o público infantil, a fim de minimizar a irritação cutânea, facilitar a aplicação tópica do extrato medicinal e servir como forma de tratamento alternativo e efetivo da pediculose.

2. Metodologia

2.1 Produção do extrato hidroalcoólico de *Ruta graveolens* L.

Para a obtenção do extrato de *R. graveolens* L. foi utilizado o método de turbólise (Oliveira *et al.*, 2016) com a planta seca (Bem Natural Produtos Naturais, Paraná, BR) e etanol:água (70:30, v/v) numa proporção de 10% (p/v) planta: solução extratora. A trituração foi realizada com auxílio de um liquidificador por 15 min, com intervalo de 10 min a cada 5 min de trituração. O extrato foi macerado por 24 horas e, em seguida, filtrado para retirada dos resíduos. Após a filtração, o extrato foi concentrado em temperatura de 35 °C até o aumento da viscosidade e, por fim, foi calculado o rendimento (RE) através da Equação 1.

$$RE = \text{peso da cápsula com extrato} - \text{peso da cápsula vazia} \quad (\text{Equação 1})$$

2.2 Obtenção das micropartículas de poli-(ε-caprolactona) contendo o extrato hidroalcoólico de *Ruta graveolens* L.

As micropartículas de PCL contendo o extrato hidroalcoólico de *R. graveolens* L. foram obtidas utilizando o método da emulsão simples, seguida da evaporação do solvente orgânico (Nadal *et al.*, 2019). Primeiramente, foi obtida a solução constituinte da fase orgânica (FO) composta pelo extrato de *R. graveolens* L. e do polímero PCL, alterando a proporção em cada formulação como demonstrado na Tabela 1. Em seguida, foram dissolvidos em 15 mL de diclorometano e a FO foi vertida sobre a fase aquosa (FA) composta por poloxamer 407® e água ultrapura sob agitação intensa (5.000 rpm) por 5 min. Por fim, a emulsão resultante foi mantida em agitação (800 rev/min) por um período de 4 horas para a total evaporação do solvente. Para fins de comparação, uma formulação sem a adição do extrato (M0) também foi obtida.

Tabela 1 – Formulações das micropartículas de PCL contendo o extrato de *R. graveolens* L. obtidas pelo método da emulsão simples, seguida da evaporação do solvente orgânico.

COMPOSIÇÃO	FORMULAÇÃO			
	M0	M1	M2	M3
FO				
Extrato de <i>R. graveolens</i> L. (g)	-	0,75	0,75	1,50
PCL (g)	0,75	0,75	1,50	0,75
Diclorometano (mL)	15	15	15	15
FA				
Poloxamer 407® (g)	0,5	0,50	0,50	0,50
Água ultrapura (mL)	100	100	100	100

Fonte: Os autores

Após a produção das micropartículas, metade das formulações foram liofilizadas e a outra metade foi deixada em solução e armazenada sob refrigeração. Ao final foi realizado o cálculo de rendimento através da Equação 2, utilizando as micropartículas liofilizadas.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa das micropartículas}}{\text{massa}(\text{polímero}+\text{extrato}+\text{polaxamer 407})} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

2.3 Caracterização físico-química das micropartículas de poli-(ε-caprolactona) contendo o extrato hidroalcoólico de *Ruta graveolens* L.

2.3.1 Determinação do tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta

O tamanho das micropartículas foi avaliado pela espectrometria de difração a laser (Zetasizer Nanoseries, Malvern Instruments, Malvern, UK), com faixa de análise entre 0,1 a 10000 nm. As amostras que estavam em solução foram diluídas (1:9, v/v) e realizada a análise em triplicata. O potencial zeta foi verificado através da técnica de microeletroforese de laser doppler, onde um campo elétrico foi aplicado nas amostras e a velocidade com que elas se moviam era relacionada ao potencial zeta. A velocidade foi medida usando o interferômetro a laser patenteado, M3 PALS (PhaseAnalysis Light Scattering). Esta velocidade possibilitou o cálculo da mobilidade electroforética, e desta forma, o potencial zeta das amostras.

2.3.2 Microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo (MEV-FEG)

A análise morfológica e de superfície das formulações foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (modelo: Mira 3/Tescan). As amostras das micropartículas liofilizadas foram metalizadas com ouro e para obtenção das eletromicrografias foi empregada voltagem de aceleração de 15 kV e utilizado software específico.

2.3.3 Avaliação por espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)

As micropartículas liofilizadas e os materiais isolados (extrato de *R. graveolens* L., PCL e polaxamer 407®) foram analisadas por espectroscopia na região de infravermelho, em pastilha com KBr no equipamento IRPrestige-21, na faixa de 500 – 4000 cm⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹ e 32 scan/min. Os espectros obtidos foram avaliados para verificar os grupos funcionais envolvidos na formação das micropartículas e seus materiais isolados.

2.4 Eficiência de encapsulação do extrato hidroalcolóico incorporado nas micropartículas poliméricas

A quantificação da eficiência da encapsulação do extrato de arruda nas micropartículas poliméricas em solução foi realizada pelo método indireto de quantificação. Primeiramente, uma curva de calibração foi obtida a partir de solução estoque de 500 µg/mL de extrato de arruda em etanol, a qual foi quantificada por espectrofotometria UV-Vis em intervalo de comprimento de onda entre 190 a 1100 nm (Thermo Fisher Scientific, Genesys 10 UV Scanning, Madison, USA). As concentrações de 12,5, 25, 50, 100, 150, 200 e 300 µg/mL (em duplicatas) compuseram a curva de calibração. A partir disso, foram realizadas as leituras das amostras advindas das formulações previamente centrifugadas (15 mL de cada amostra em 2.000 rev/min por 15 min em temperatura ambiente).

Para o cálculo da eficiência de encapsulamento (EE%) utilizou-se a Equação 3 abaixo:

$$EE(\%) = \left(\frac{\text{quantidade de extrato adicionado} - \text{quantidade de extrato não encapsulado}}{\text{quantidade de extrato adicionado}} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

2.5 Desenvolvimento da formulação de xampu para veiculação das micropartículas poliméricas

Após a obtenção, caracterização e quantificação das micropartículas de PCL contendo o extrato de arruda, foi desenvolvido uma formulação de xampu infantil para a veiculação dos sistemas poliméricos. A Tabela 2 apresenta a composição da formulação de xampu.

Tabela 2 – Composição da formulação de xampu infantil.

COMPOSIÇÃO (nomenclatura INCI)	CONCENTRAÇÃO (%, p/p)	FASE	QUANTIDADE (g)
Sodium laureth ether sulfate	12	B	12,0
Cocoamidopropyl betaine	8	B	8,0
Cocamide DEA	4	B	4,0
Carbomer 940	1,0	A	1,0
Methylparaben	0,15	A	0,15
Disodium EDTA	0,10	A	0,10
Parfum	q.s.		5 gotas
Triethanolamine	q.s.p. pH 7,0		15 gotas
Aqua	q.s.p. 100	A	74,75

Nota: q.s. = quantidade suficiente/ q.s.p. = quantidade suficiente para. Fonte: Autores.

Em um cálice, foram pesados os elementos da fase B e homogeneizados. Em um béquer, foram pesados os elementos da fase A, aquecidos até 70 °C para solubilização e, na sequência, homogeneizados em agitador mecânico (Fisatom, modelo 235, Diadema, Brasil) para total solubilização. Posteriormente, foi feita a neutralização do Carbopol 940 com trietanolamina até pH 7,0 e essa fase foi vertida sobre a fase B. Ambas foram homogeneizadas e por fim, adicionado a essência.

2.6 Avaliação das características organolépticas do xampu

As características organolépticas avaliadas foram o aspecto, a cor e o odor do xampu infantil formulado.

2.7 Avaliação físico-química do xampu

2.7.1 pH

O pH foi avaliado de forma qualitativa, através de fitas indicadoras de pH (Macherey-Nagel MN, Alemanha).

2.7.2 Densidade

A avaliação da densidade foi realizada por medição da massa e volume da formulação do xampu em proveta, conforme cálculo apresentado na Equação 4, em que a massa da formulação de xampu foi a diferença da massa da proveta contendo o xampu subtraída da massa da proveta vazia e o volume indicado pelo menisco da proveta de 100 mL.

$$Densidade = \left(\frac{\text{peso da proveta cheia} - \text{peso da proveta vazia}}{\text{volume}} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

2.7.3 Viscosidade

A avaliação da viscosidade foi verificada pelo método de copo Ford, o qual foi preenchido com xampu ocupando todo o espaço do copo nivelado, com utilização do orifício de tamanho número 3. Após o preenchimento com xampu, o tempo foi cronometrado a partir do momento em que o xampu começou a escoar até a primeira interrupção de escoamento. A viscosidade foi determinada a 25 °C e calculada pela Equação 5, onde T é o tempo de escoamento do xampu.

$$Viscosidade (cP) = [1,5765 \times T + (-11,01)] \times densidade \quad (\text{Equação 5})$$

3. Resultados e Discussão

3.1 Produção do extrato hidroalcoólico de *Ruta graveolens* L.

O extrato da planta seca apresentou aspecto viscoso de coloração verde escuro e odor característico, considerando que o método extrativo, o solvente utilizado, o tempo e a temperatura influenciam diretamente no rendimento total do extrato. Dessa forma, o método de turbólise foi escolhido por ser um método de extração a frio; o solvente hidroalcoólico pela sua capacidade de extrair compostos polares e apolares; e a temperatura de 35 °C foi mantida, a fim de se preservar os compostos termolábeis e outras substâncias que poderiam sofrer modificações ao se utilizar altas temperaturas (Oliveira *et al.*, 2016).

Após, a concentração do extrato obtido foi realizada em banho-maria a 35 °C e a avaliação do rendimento com pesagem da cápsula vazia e da cápsula contendo o extrato concentrado (Equação 1), resultando em um rendimento de 28,45 g de extrato a partir de solução inicial de 1000 mL. Posteriormente, o extrato foi armazenado em temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

3.2 Obtenção das micropartículas de poli-(ε-caprolactona) contendo o extrato hidroalcoólico de *Ruta graveolens* L.

As micropartículas poliméricas foram obtidas com sucesso pelo método da emulsão simples seguida da evaporação do solvente orgânico. A difusão do solvente orgânico para a fase aquosa e sua posterior evaporação na interface ar/água levam à formação das micropartículas (Severino *et al.*, 2011).

3.3 Cálculo do rendimento

Os rendimentos do preparo das micropartículas foram calculados com base na Equação 2. A Tabela 3 sumariza os resultados percentuais de rendimento.

Tabela 3 – Rendimento das formulações de micropartículas poliméricas obtidas pelo método da emulsão simples seguida da evaporação do solvente.

FORMULAÇÃO	RENDIMENTO (%)
M0	54,4
M1	52,0
M2	30,5
M3	61,8

Fonte: Autores.

Dentre as formulações, a M3 foi a formulação que apresentou o maior rendimento (61,8%) e, com isso, pode ser observado que conforme aumenta a quantidade de extrato, o rendimento de produção da formulação das micropartículas também aumenta (Mendes *et al.*, 2011).

3.4 Caracterização físico-química das micropartículas de poli-(ϵ -caprolactona) contendo o extrato hidroalcolólico de *Ruta graveolens* L.

3.4.1 Determinação do tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta \pm

O resultado do tamanho médio, do índice de polidispersão (IPD) e do potencial zeta das formulações estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados das determinações de tamanho médio, índice de polidispersão e potencial zeta das micropartículas poliméricas.

FORMULAÇÃO	TAMANHO MÉDIO (nm \pm DP*)	IPD \pm DP*	POTENCIAL ZETA (mV \pm DP*)
M0	686,8 \pm 112,08	0,64 \pm 0,13	-28,53 \pm 2,90
M1	2200,3 \pm 504,87	0,32 \pm 0,02	-23,93 \pm 0,56
M2	2973,6 \pm 1740,10	0,23 \pm 0,10	-15,40 \pm 0,82
M3	1754 \pm 771,60	0,19 \pm 0,11	-25,30 \pm 0,93

*DP = desvio padrão. Fonte: Autores.

Devido as diferenças entre as formulações foi possível observar que elas possuem uma grande variação de tamanho. A formulação M0, como não foi adicionado extrato, o polímero se fechou formando uma micropartícula pequena e sólida. Em relação as demais (M1, M2 e M3) foi possível notar que o tamanho das partículas tende a aumentar com o aumento da quantidade de polímero adicionado à formulação. Estudos explicam que o aumento do tamanho em função da concentração de polímero acontece pois há maior número de unidades de cadeias poliméricas se agregando, além disso, mais cadeias poliméricas permanecem associadas durante o processo de difusão, levando à formação de partículas maiores (Souza *et al.*, 2011). A adição do extrato de *R. graveolens* L. não afetou significativamente no tamanho das micropartículas.

O IPD, que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos, deve apresentar valores abaixo de 0,3 para serem considerados adequados para a aplicação cutânea. Em todas as dispersões obtidas contendo o extrato de *R. graveolens* L. foi obtido um índice correspondente com a literatura, indicando a formação de sistemas monodispersos e sucesso da produção (Balest, 2013).

As análises de potencial zeta indicaram a obtenção de partículas com carga negativa devido a presença de

grupamentos éster do polímero (Domingues *et al.*, 2008). A carga negativa indica estabilidade na formulação e apesar das variações nos valores das formulações preparadas com o extrato de *R. graveolens* L., não foi possível afirmar a existência de algum efeito na quantidade de extrato sobre a carga superficial das micropartículas. O mesmo não acontece com o PCL já que a formulação que possui uma maior quantidade de polímero apresentou um potencial zeta maior, ou seja, menos negativo, indicando uma menor estabilidade a formulação tendo assim maior probabilidade de agregação das micropartículas (Souza *et al.*, 2011).

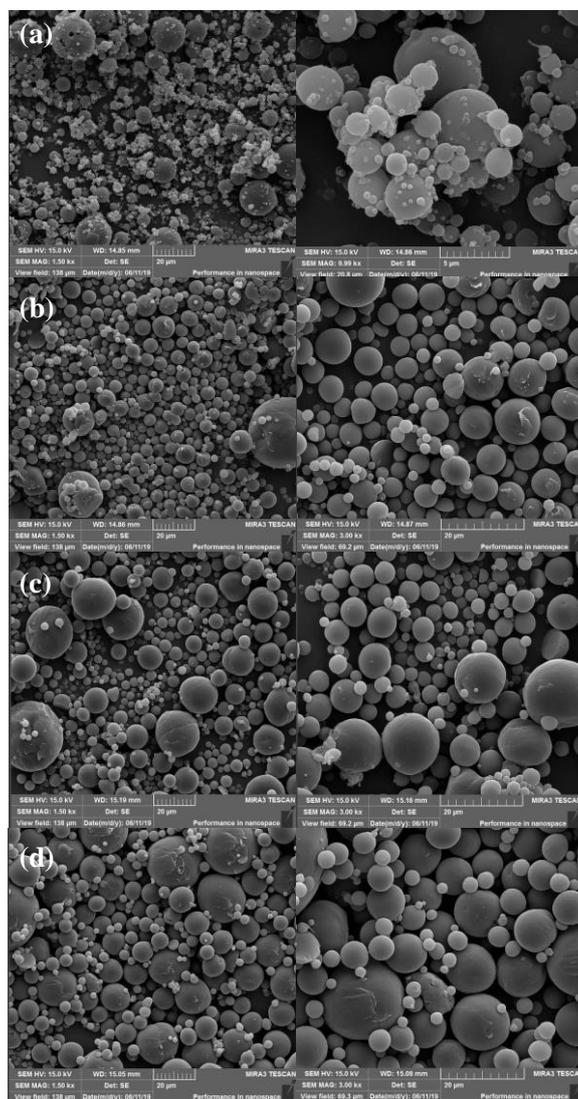
Dessa forma, pode-se afirmar que as partículas desenvolvidas se encontram em escala micrométrica com propriedades adequadas capazes de promover liberação sustentada do extrato de *R. graveolens* L. no couro cabeludo, visando o tratamento da pediculose.

3.4.2 Microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo (MEV-FEG)

Pelo estudo da morfologia das micropartículas foi possível visualizar o tamanho, o formato, a rugosidade e a porosidade das partículas. As imagens obtidas pelo MEV-FEG evidenciaram a superfície das micropartículas poliméricas, as quais continham ou não o extrato de *R. graveolens* L. A Figura 2 (a) demonstra as imagens das micropartículas da formulação M0, que não contém o extrato, as quais se apresentaram com poros e superfície rugosa, formato esférico e homogeneidade de tamanho dentre elas. A literatura indica que o aparecimento de poros na superfície das micropartículas pode ser decorrente da natureza do polímero utilizado ou ainda devido a remoção rápida do solvente orgânico (Farago *et al.*, 2008).

As Figuras 2 (b), (c) e (d) representam a microscopia das formulações M1, M2 e M3, respectivamente. As micropartículas apresentaram formato esférico com bordas lisas e regulares e sem presença de poros na superfície. Apenas a formulação M3 apresentou uma pequena quantidade de rugosidade em algumas partículas devido a maior quantidade de extrato presente na formulação, corroborando com o estudo de Mendes (2011) em relação à morfologia das micropartículas apresentadas.

Figura 2 – Fotomicrografias das formulações de micropartículas poliméricas. (a) M0, (b) M1, (c) M2, (d) M3. Imagens observadas em 1500 – 10000x.



Fonte: Autores.

A formulação M2, que possui maior quantidade de polímero, foi a que apresentou tamanho maior, confirmando que a proporção de polímero está relacionada ao tamanho das micropartículas. Desta forma, indica-se que a formulação M3 apresentou as características de acordo com o desejado para micropartículas poliméricas como tamanho diminuído, baixo IPD e potencial zeta adequados, além de possuir a maior quantidade de extrato encapsulado.

3.4.3 Avaliação por espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier (IVTF)

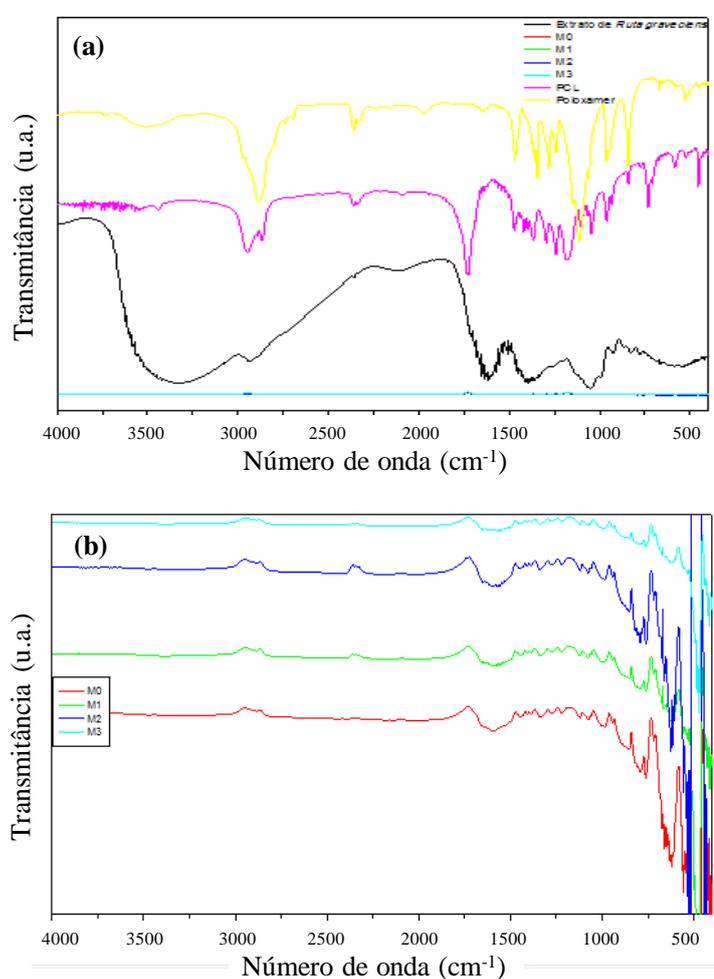
Os espectros de IVTF das micropartículas M0, M1, M2 e M3 e dos materiais isolados: extrato de *R. graveolens* L., PCL e poloxamer 407® estão apresentados na Figura 3 (a) e (b), respectivamente. Considerando que o PCL é um poliéster alifático, seu espectro possui banda forte em 1727 cm^{-1} correspondente a deformação axial do grupamento C=O e duas bandas em 2943 cm^{-1} e 2864 cm^{-1} devido as vibrações simétricas e assimétricas do grupamento $-\text{CH}_2$, respectivamente (Mendes *et al.*, 2011). No espectro do poloxamer 407® foi possível observar banda bem definida em 2888 cm^{-1} pertencente ao grupo C-H alifático e nos comprimentos de 1472 cm^{-1} e 1096 cm^{-1} duas bandas correspondentes ao grupo C-O característico do éster (da

Silva, 2017).

O extrato possui picos característicos: uma banda entre 3500 e 3000 cm^{-1} e três bandas distintas, sendo duas próximas de 1500 cm^{-1} e uma aproximadamente em 1000 cm^{-1} . Observou-se que os espectros das formulações das micropartículas foram semelhantes entre eles, devido a formulação ser a mesma, variando apenas as concentrações de polímero e extrato.

Além disso, foi possível observar que as bandas formadas nos espectros dos materiais isolados possuem características específicas que desaparecem nos espectros das micropartículas, indicando que as partículas foram formadas e o extrato foi encapsulado.

Figura 3 – (a) Espectros de IVTF das matérias-primas (extrato hidroalcoólico de *R. graveolens* L., PCL e Poloxamer 407®) e (b) das formulações de micropartículas poliméricas (M0, M1, M2 e M3).



Fonte: Autores.

3.5 Eficiência de encapsulação do extrato hidroalcoólico *R. graveolens* L. incorporado nas micropartículas poliméricas

A determinação da eficiência de encapsulação das micropartículas foi realizada através do método indireto de quantificação, que considera a quantidade de extrato contido no sobrenadante das micropartículas após centrifugação e, portanto, não encapsulado, para o cálculo da quantidade de extrato contida nas micropartículas.

A varredura da solução *R. graveolens* L. na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$ realizada no espectrofotômetro UV-Vis mostrou uma maior absorvância no comprimento de onda de 303 nm. Assim, com o comprimento de onda definido, as leituras

das soluções de trabalho nas concentrações de 12,5, 25, 50, 100, 150, 200 e 300 µg/mL foram efetivadas. A curva de calibração obtida após as leituras resultou na equação da reta de $y = 0,0027x + 0,0019$ com coeficiente de correlação linear de $r = 0,998$ ($R^2 = 0,9971$), indicando a linearidade do método dentro do limite de concentrações estudadas, além de estar de acordo com o critério mínimo aceitável ($> R^2 = 0,990$) descrito na RDC nº 166 de 2017 (Brasil, 2017).

A partir da equação da reta foram adquiridas as concentrações de extrato de *R. graveolens* L. presente no sobrenadante e ao utilizar a Equação 3, obteve-se a EE% com os resultados mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Eficiência de encapsulação (EE%) das micropartículas poliméricas contendo extrato de *R. graveolens* L.

FORMULAÇÃO	EXTRATO (g)	PCL (g)	CONCENTRAÇÃO (µg/mL)	EE%	Massa de extrato encapsulado (g)
M1	0,75	0,75	104,48	86,06	0,64
M2	0,75	1,50	133,00	82,26	0,62
M3	1,50	0,75	67,07	95,52	1,43

Fonte: Autores.

Todas as formulações apresentaram alta taxa de encapsulamento do extrato nas micropartículas, superiores a 80%. Os altos níveis de encapsulação são importantes, pois garantem a liberação controlada do extrato, bem como a proteção contra degradação, além de possibilitar a diminuição dos efeitos fototóxicos causados na pele devido a presença das furanocumarinas (Severino *et al.*, 2011; Reis *et al.*, 2013). Dentre as formulações, M3 possuiu a maior quantidade de extrato encapsulado, cerca de 95% de eficiência de encapsulação.

3.6 Avaliação das características organolépticas do xampu

A formulação de xampu infantil desenvolvida apresentou características condizentes com xampu, coloração branca devido a adição do Carbopol 940 para auxiliar no aumento de viscosidade e odor característico devido a essência adicionada.

3.7 Avaliação físico-química do xampu

3.7.1 pH

O pH é um dos requisitos críticos para se obter uma formulação de xampu infantil segura, dessa forma, foi ajustado para pH 7,0, próximo ao pH lacrimal, a fim de evitar a irritação ocular em crianças (Barbara *et al.*, 2007).

3.7.2 Densidade

Para a avaliação da densidade foi utilizada uma proveta de 100 mL, com as massas da proveta vazia de 125,60 g e cheia de 225,85 g. Através da Equação 4 obteve-se uma densidade de 1,0025 g/mL para a formulação de xampu infantil desenvolvida. De acordo com Ferreira (2008), a densidade dos xampus líquidos deve estar entre 1,0000 a 1,0200 g/mL, portanto, adequada para a formulação desenvolvida.

3.7.3 Viscosidade

O tempo de escoamento ininterrupto para a verificação da viscosidade foi de 37,22 segundos com valor de viscosidade de 14,78 cP calculado pela equação 5. A viscosidade é definida como a resistência que o produto oferece à deformação ou ao fluxo, que depende das características físico-químicas e de condições como a temperatura. A viscosidade adequada é aquela em que o produto não escorre da mão antes de ser aplicado, sendo a formulação de xampu desenvolvida adequada para o uso (Lourenço, 2013).

4. Conclusão

As micropartículas de PCL contendo o extrato hidroalcoólico de *R. graveolens* L. foram obtidos com êxito pelo método utilizado, com rendimento na faixa de 30 a 61,8%. As micropartículas apresentaram formato esférico com bordas lisas regulares sem a presença de poros na superfície, tamanho na ordem de micrômetros (686,8 – 2973,6 nm), baixo índice de polidispersão e potencial zeta negativo. Através de análises dos espectros de IVTF foram demonstradas bandas diferentes para as micropartículas em comparação com os espectros dos materiais isolados, evidenciando o encapsulamento do extrato de *R. graveolens* L.

Dentre as micropartículas desenvolvidas, a M3 (proporção 2:1 de extrato:polímero) apresentou maior rendimento (61,8%) e maior eficiência de encapsulação (95%), além de apresentar as melhores características de tamanho ($1754,3 \pm 771,6$ nm), índice de polidispersão ($0,19 \pm 0,110$) e potencial zeta ($-25,30 \pm 0,93$ mV), dessa forma, a formulação de micropartículas mais adequada para a veiculação no xampu.

A formulação de xampu infantil desenvolvida apresentou características organolépticas e físico-químicas adequadas para a veiculação das micropartículas contendo o extrato de *R. graveolens* L. com destinação ao público infantil para tratamento da pediculose do couro cabeludo, a fim de promover liberação sustentada do extrato e propiciar menor fototoxicidade devido a presença de furanocumarinas da arruda.

Dessa forma, como perspectiva futura será possível realizar a avaliação sobre o *Pediculus humanus capitis* para verificar a eficácia piolhícida da formulação desenvolvida como alternativa de tratamento inovadora e segura contendo sistemas microparticulados a fim de evitar os efeitos colaterais relacionados a aplicação tópica da arruda.

Referências

- Balest, A. P. (2013). *Caracterização e estudo de estabilidade de suspensões de nanocápsulas poliméricas contendo óleo de pequi (Caryocar brasiliense Camb)*. Trabalho de conclusão de curso (TCC) na farmácia. Universidade de Brasília.
- Barbara, M. C. S., Almódovar, A. A. B., Miyamaru, L. L., Bugno, A., dos Santos, L. M. A. & Saito, T. Y. (2007). Avaliação da segurança dos xampus de uso infantis utilizados no comércio de São Paulo. *Revista do instituto Adolfo Lutz*, 66(3) 225-229.
- Barbosa, J. V. & Pinto, Z. T. (2003). Pediculose no Brasil. *Entomol. Vect.* 579-586.
- Barboza, F. M. (2013). *Desenvolvimento, caracterização e avaliação de micropartículas poliméricas contendo manidipina*. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- Brasil. (2017). RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. *Critérios para a validação de métodos analíticos*. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Brasil. (2018). RDC nº 237, de 16 de julho de 2018. *Estabelece os requisitos técnicos relativos à formulação, segurança e rotulagem para regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes infantis, neste regulamento designados 'produtos infantis'*. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- Bravo, B. S. F. & Balassiano, L. K. A. (2014). Fitofotodermatite por *Ruta graveolens* com manifestação cutânea extensa. *Revista Bras Queimaduras*. 13(3) 177-179.
- Camargo, G. dos A.; da Costa Filha, A. R. C.; Lyra, A. M.; Novatski, A.; Nadal, J. M.; de Lara, L. S.; Dias, D. T.; do Nascimento, E. A.; Silva, U. R.; Jacinto, C. & Farago, P. V. (2020). Stability testing of tacrolimus-loaded poly(ϵ -caprolactone) nanoparticles by physicochemical assays and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*. 110. 103139.
- Chirolí, M., Campos, R. & da Silva, L. L. (2013). Doadores de viscosidade utilizados em xampus: revisão de literatura, 2000 a 2012. *Visão acadêmica*. 14(1) 71-74.
- da Motta, E. F. R. O. (2007). Fabricação de produtos de higiene pessoal. REDETEC. <http://sbrt.ibict.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MzA5>
- da Silva, C. M. B. (2017). *Formulação de gel termossensível mucoadesivo contendo cloridrato de pilocarpina para tratamento de xerostomia*. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco.
- de Oliveira, N. G. S.; da Costa, G. O. P.; de Oliveira, C. M. R.; Sousa, N. L. de A.; Senna, L. V. S.; Furtado, E. Z. L.; Isidoro, F. B. M.; Rosal, V. M. de S.; Toussaint, L. S. M. & Dias, L. F. (2022). Infestação por *pediculus humanus capitis* na infância e adolescência: estratégias para prevenção e controle. *Research, Society and Development*. 11(6) e22111629091.

- Dias, M. F. R. G., de Almeida, A. M., Cecato, P. M. C., Adriano, A. R. & Pichler, J. (2014). The shampoo pH can affect the hair: myth or reality? *International Journal of Trichology*. 6(3) 95-99.
- Domingues, G. S., Guterres, S. S., Beck, R. C. R. & Pohlmann, A. R. (2008). Micropartículas nanorrevestidas contendo um fármaco modelo hidrofóbico: preparação em etapa única e caracterização biofarmacêutica. *Química Nova*. 31(8) 1966-1972.
- Farago, P. V., Raffin, R. P., Pohlmann, A. R., Guterres, S. S. & Zawadzki, S. F. (2008). Physicochemical characterization of a hydrophilic model drug-isolated PHBV microparticles obtained by the double emulsion/solvent evaporation technique. *Journal of Brazilian Chemical Society*. 19(7) 1298-1305.
- Ferreira, A. (2008). Guia Prático da Farmácia Magistral. (3. ed.)
- Garzoni, F. S. M. & de Carvalho, V. G. (2021). Pediculose: fatos históricos sobre a doença e a busca persistente pelo tratamento ideal. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*. 13(5) 1-7.
- Ghranh, H. A.; Ibrahim, E. H.; Kilnay, M.; Ahmad, Z.; Alhag, S. K.; Khan, K. A.; Taha, R. & Asiri, F. M. (2020). Silver Nanoparticle Production by *Ruta graveolens* and Testing Its Safety, Bioactivity, Immune Modulation, Anticancer, and Insecticidal Potentials. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. 2020. 1-11.
- Gomes, J. G. C. C. (2011). *Estudo de pré-formulação e desenvolvimento de preparações cosméticas*. Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- Gomes, V. L. O., Rodrigues, M. G. S. & Vaz, M. R. C. (1999). Ação da *Ruta graveolens* (Arruda) no tratamento da pediculose. *Vittalle*. 11. 11-16.
- Heukelbach, J., de Oliveira, F. A. S. & Hermann, F. (2003). Ectoparasitoses e saúde pública no Brasil: desafios para controle. *Caderno de Saúde Pública*. 19(5) 1535-1540.
- Jianu, C.; Golet, I.; Stoin, D.; Cocan, I.; Bujancã, G.; Miscã, C.; Mioc, M.; Mioc, A.; Soica, C.; Lukinich-Gruia, A. T.; Rusu, L-C.; Muntean, D. & Horhat, D. I. (2021). Chemical Profile of *Ruta graveolens*, Evaluation of the Antioxidant and Antibacterial Potential of Its Essential Oil, and Molecular Docking Simulations. *Applied sciences*. 11. 11753.
- Kovaliczn, R. A., Ridsen, F. da S., Dabul, A. N. G., Farago, P. V. & de Paula, J. P. (2009). Avaliação inseticida contra *Pediculus humanus capitis* De Geer e de irritação cutânea aguda de soluções hidroglicólicas contendo *Ruta graveolens* L. *Rev. Bras. Farm.* 90(3) 200-203.
- Lourenço, A. R. N. (2013). *Administração Tópica de Fármacos - das Restrições aos Desafios*. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Mendes, J. B. E. (2011). *Desenvolvimento e avaliação de micropartículas poliméricas contendo resveratrol*. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- Moroni, R. B., Bezerra, F. C., Mendes, J., Moroni, F. T., dos Santos, J. M. M., Maia, J. de F., Tadei, W. P. & Justiniano, S. C. B. (2014). Atividade repelente do extrato etanólico de arruda (*Ruta graveolens*) contra piolho de cabeça (*Pediculus capitis*). *Revista Scientia Amazonia*. 3(3) 32-40.
- Nadal, J. M., Camargo, G. dos A., Novatski, A., Macenhan, W. R., Dias, D. T., Barboza, F. M., Lyra, A., Roik, J. R., de Paula, J. P., Somer, A. & Farago, P. V. (2019). Adapalene-loaded poly(ϵ -caprolactone) microparticles: Physicochemical characterization and in vitro penetration by photoacoustic spectroscopy. *PLoS ONE*. 14(3) e0213625.
- Oliveira, V. B., Zuchetto, M., Oliveira, C. F., Paula, C. S., Duarte, A. F. S., Miguel, M. D. & Miguel, O. G. (2016). Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de *Dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. *Rev. Bras. Pl. Med.* 18(1) 230-239.
- Orlanda, J. F. F. & Mouchrek, A. N. (2021). Efeito larvicida do óleo essencial das folhas de *Ruta graveolens* LINNEAU no controle de *Aedes aegypti* (LINNAEU, 1762) (Diptera: Culicidae). *Research, Society and Development*. 10(12) e115101220028.
- Reis, K. B. (2013). *Extrato Padronizado de Ruta graveolens L.: Avaliação De Seu Potencial No Controle Da Brusone Em Arroz*. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Goiás.
- Rinaldi, A. P. T., Mazera, S. K., Pezzini, B. R., Zétola, M. & Bazzo, G. C. (2009). Preparo e caracterização de micropartículas de acetobutirato de celulose e poli(3-hidroxiobutirato) contendo piroxicam. *Acta Scientiarum*. 31(1) 51-56.
- Rocha, E. F. Sakamoto, F. T., da Silva, M. H. & Gaiti, A. V. (2012). Investigação da intensidade de parasitismo, prevalência e ação educativa para controle de pediculose. *Perspectivas Médicas*. 23(2) 5-10.
- Schaffazick, S. R., Guterres, S. S., Freitas, L. de L. & Pohlmann, A. R. (2003). Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química nova*. 26(5) 726-737.
- Severino, P., Santana, M. H. A., Pinho, S. C. & Souto, E. B. (2011). Polímeros Sintéticos Biodegradáveis: Matérias-primas e Métodos de Produção de Micropartículas para uso em Drug delivery e Liberação Controlada. *Polímeros*. 21(4) 286-292.
- Siqueira, D. D., Morais, D. D. de S., Luna, C. B. B., de Araújo, E. M., de França, D. C. & Wellen, R. M. R. (2018). Efeitos das variáveis reacionais na síntese de um polímero biodegradável funcionalizado: PCL-g-MA. *Revista Matéria*. 23(4) 1-3.
- Souza, P. M. S., Lobo, F. A., Rosa, A. H. & Fraceto, L. F. (2011). Desenvolvimento de nanocápsulas de poli- ϵ -caprolactona contendo o herbicida atrazina. *Química nova*. 35(1) 132-137.

Tovar, C. D. G.; Castro, J. I.; Llano, C. H. V.; Porras, D. P. N.; Ospina, J. D.; Zapata, M. E. V.; Hernandez, J. H. M. & Chaur, M. N. (2020). Synthesis, Characterization, and Histological Evaluation of Chitosan-*Ruta Graveolens* Essential Oil Films. *Molecules*. 25. 1688.

Vogelsager Jr, N., Furlan, S. A., Schneider, A. L. S., Pires, A. T. N., Pezzin, S. H. & Pezzin, A. P. T. (2004) Filmes de P(3HB) e PCL: Acompanhamento da Biodegradação em Solo por Propriedades Térmicas e Morfológicas. *Matéria*. 9(4) 370-377.