

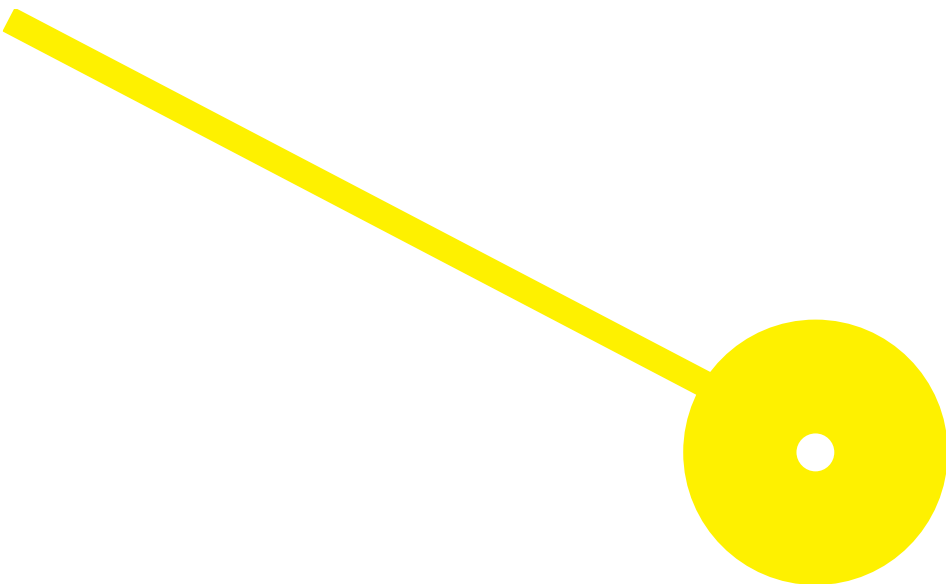
M

MESTRADO
FARMÁCIA

Potencial cosmético de *Artemisia campestris*

Adriana Alexandra Veloso Silva

10/2022





**ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE**



Potencial cosmético de *Artemisia campestris*

Autor

Adriana Alexandra Veloso Silva

Orientadores

Professora Doutora Ana Isabel de Freitas Tavares de Oliveira, Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde (ESS), Instituto Politécnico do Porto (IPP)

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Farmácia – Ramo em Tecnologia do Medicamento e de Produtos de Saúde pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

Agradecimentos

O corrente ano de 2022 foi marcado por diversas dificuldades, desafios e concretizações, tanto a nível pessoal como profissional, tendo a realização do presente trabalho de investigação apenas sido possível graças ao apoio incondicional de todos aqueles que me rodeiam e acompanham e a quem não posso deixar de expressar os mais sentidos agradecimentos.

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha orientadora, Prof. Doutora Ana Isabel Oliveira que foi absolutamente fundamental. Os ensinamentos partilhados durante todo o projeto, a disponibilidade constante, as palavras de apoio, a paciência e motivação, mesmo nos momentos de maior insegurança e frustração, agradeço e nunca esquecerei.

Quero agradecer também à Prof. Doutora Cláudia Pinho toda a disponibilidade e colaboração.

A todos os meus amigos, pelas palavras de incentivo, mas principalmente pelos momentos de diversão essenciais e por trazerem sempre ao de cima o melhor de mim.

Não posso deixar de parte os meus colegas de trabalho, pela flexibilidade, compreensão e apoio constantes, em todas as diferentes etapas deste projeto – sou uma sortuda.

Por fim, um especial agradecimento aos meus pais e irmão por estarem permanentemente comigo, a vocês devo o que sou hoje e a quem espero continuar a encher de orgulho. Termina com um agradecimento muito importante, ao meu grande companheiro, melhor amigo e namorado por ser o suporte em cada momento.

Resumo

Nos últimos anos, é evidente a importância das plantas medicinais e seus compostos no cuidado cutâneo. Os extratos de *Artemisia campestris* demonstram uma composição fitoquímica rica, sendo comumente utilizada como planta medicinal. O presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade antioxidante de extratos de folhas de *A. campestris* e sua potencial incorporação em formulações cutâneas. Assim, procedeu-se ao *screening* fitoquímico e à avaliação do potencial antioxidante através de diversos ensaios de extratos aquosos e hidroalcoólicos. Foi ainda explorada a compatibilidade do extrato aquoso com a pele através de ensaios de viabilidade celular em queratinócitos humanos, assim como testes de estabilidade acelerada de formulações contendo o extrato. Os resultados demonstram uma elevada capacidade antioxidante do extrato aquoso ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$), bem como uma elevada composição em compostos fenólicos em ambos os extratos ($> 20 \text{ mg EAG/g}$). Verificou-se, ainda, que o extrato aquoso da planta não revelou uma interferência significativa na proliferação celular, o que é indicativo de uma possível utilização segura a nível cutâneo. Finalmente, a avaliação da estabilidade demonstrou a manutenção da estabilidade de emulsões com extrato incorporado. O estudo permitiu assim um conhecimento preliminar face à potencial utilização de extratos de *A. campestris* no cuidado cutâneo.

Palavras-chave: *Artemisia campestris*; antioxidante; cosmética; emulsão O/A; ensaios de estabilidade

Abstract

In recent years, the importance of medicinal plants and their compounds in skin care is evident. *Artemisia campestris* extracts demonstrate a rich phytochemical composition, being commonly used as a medicinal plant. The present study aims to evaluate the antioxidant activity of *A. campestris* leaf extracts and their potential incorporation into skin formulations. Thus, the phytochemical screening and the evaluation of the antioxidant potential were carried out through several assays of aqueous and hydroalcoholic extracts. The compatibility of the aqueous extract with the skin was also explored through cell viability assays in human keratinocytes, as well as accelerated stability tests of formulations containing the extract. The results demonstrate a high antioxidant capacity of the aqueous extract ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$), as well as a high composition of phenolic compounds in both extracts ($> 20 \text{ mg EAG/g}$). It was also verified that the aqueous extract of the plant did not show a significant interference in cell proliferation, which is indicative of a possible safe use at the cutaneous level. Finally, the stability evaluation demonstrated the maintenance of the stability of emulsions with incorporated extract. The study thus provided a preliminary understanding of the potential use of *A. campestris* extracts in skin care.

Keywords: *Artemisia campestris*; antioxidant; cosmetics; O/W emulsion; stability testing

Índice

| | |
|---|-------------------------------|
| Agradecimentos..... | Erro! Marcador não definido. |
| Resumo..... | Erro! Marcador não definido. |
| Abstract..... | Erro! Marcador não definido.V |
| Índice de siglas, abreviaturas, acrónimos e símbolos..... | VII |
| Índice de tabelas..... | VIII |
| Índice de figuras..... | IX |
| 1. Introdução..... | 1 |
| 1.1. A pele..... | 1 |
| 1.2. Stress oxidativo e o papel dos antioxidantes..... | 2 |
| 1.3. Importância das plantas medicinais no cuidado cutâneo..... | 4 |
| 1.4. <i>Artemisia campestris</i> | 5 |
| 2. Objetivos..... | 8 |
| 3. Materiais e Métodos..... | 9 |
| 3.1. Reagentes..... | 9 |
| 3.2. Material vegetal..... | 9 |
| 3.3. Preparação dos Extratos..... | 9 |
| 3.4. Pesquisa Bibliográfica..... | 10 |
| 3.5. Screening Fitoquímico..... | 10 |
| 3.5.1. Compostos Fenólicos..... | 10 |
| 3.5.2. Polifenóis..... | 10 |
| 3.5.3. Flavonóides..... | 10 |
| 3.5.4. Taninos..... | 11 |
| 3.5.5. Diterpenóides..... | 11 |
| 3.5.6. Terpenóides..... | 11 |
| 3.5.7. Alcalóides..... | 11 |
| 3.6. Avaliação da atividade antioxidante..... | 11 |
| 3.6.1. Atividade de quelação de ferro..... | 11 |
| 3.6.2. Determinação dos compostos fenólicos totais..... | 12 |
| 3.6.3. Capacidade de captação de radicais DPPH..... | 12 |
| 3.7. Viabilidade celular..... | 13 |
| 3.8. Estabilidade Físico-Química..... | 13 |
| 3.9. Análise Estatística..... | 14 |

| | | |
|------|--|----|
| 4. | Resultados e Discussão | 15 |
| 4.1. | <i>Screening</i> Fitoquímico..... | 15 |
| 4.2. | Atividade antioxidante <i>in vitro</i> | 16 |
| 4.3. | Viabilidade celular | 19 |
| 4.4. | Estabilidade Físico-Química..... | 20 |
| 5. | Conclusão..... | 26 |
| 6. | Referências Bibliográficas | 28 |
| 7. | Anexos..... | 35 |

Índice de siglas, abreviaturas, acrónimos e símbolos

| | |
|------------------|---|
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| CO ₂ | Dióxido de carbono |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picrilhidrazil |
| EAG | Equivalentes de ácido gálico |
| EDTA | Ácido etilenodiamino tetra-acético |
| et al. | E outros |
| g | Gramas |
| h | Horas |
| HPLC | Cromatografia líquida de elevada eficiência |
| IC ₅₀ | Concentração inibitória média |
| kg | Quilogramas |
| mg | Miligramas |
| min | Minutos |
| mL | Mililitros |
| mM | Milimolar |
| mPas | Milipascal |
| µg | Microgramas |
| µL | Microlitros |
| µM | Micromolar |
| pH | Potencial de hidrogénio |
| Q | Quercetina |
| ROS | Espécies reativas de oxigénio |
| rpm | Rotações por minuto |
| UV | Ultravioleta |
| UV/vis | Ultravioleta/visível |
| V/V | Volume/volume |
| + | Presença |
| - | Ausência |

Índice de tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Screening fitoquímico para extratos aquoso e hidroalcoólico de <i>Artemisia campestris</i> | 15 |
| Tabela 2: Atividade antioxidante dos extratos aquoso e hidroalcoólico da planta <i>Artemisia campestris</i> . | 16 |
| Tabela 3: Compostos fenólicos totais dos extratos aquoso e hidroalcoólico de <i>Artemisia campestris</i> | 18 |
| Tabela 4: Avaliação inicial dos caracteres organoléticos de formulações com extrato aquoso de <i>Artemisia campestris</i> (0,3%) e respetivo controlo (creme base O/A) | 21 |
| Tabela 5: Avaliação dos caracteres organoléticos de formulações com extrato de <i>Artemisia campestris</i> (0,3%) e respetivo controlo (creme base O/A) referente aos 4 momentos de análise (tempos 1 a 4)..... | 21 |
| Tabela 6: Viscosidade das formulações com extrato incorporado de <i>Artemisia campestris</i> (0,3%) e controlo (creme base O/A) ao longo do tempo..... | 22 |
| Tabela 7: pH das formulações com extrato incorporado de <i>Artemisia campestris</i> (0,3%) e controlo (creme base O/A) ao longo do tempo..... | 24 |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1: Estrutura da pele. Adaptado de (Voegeli, 2012)..... | 1 |
| Figura 2: Consequências fisiológicas do stress oxidativo, adaptado de (Baek & Lee, 2016)..... | 3 |
| Figura 3: A) Fotografia de <i>Artemisia campestris</i> L., por Ali Berraaouan, adaptado de (Dib & El Alaoui-Faris, 2019). B) Mapa da distribuição de <i>Artemisia campestris</i> em Portugal (Carapeto et al., 2022)..... | 6 |
| Figura 4: Toxicidade do extrato aquoso de <i>Artemisia campestris</i> em células HaCat com proliferação celular calculada através do ensaio MTT após 24h..... | 20 |

1. Introdução

1.1. A pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, com a função primordial de proteger contra os danos dos agentes externos nocivos, como patógenos, poluição, radiação ultravioleta (UV), ameaças químicas, mudanças de temperatura e desidratação (Cavinato *et al.*, 2017; Pérez-Sánchez *et al.*, 2018). Apresenta ainda capacidade regeneradora, de modo a reparar esses danos (Markiewicz & Idowu, 2019).

Do ponto de vista histológico, é um órgão complexo e dinâmico constituído por três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme, bem como estruturas subjacentes denominadas de anexos cutâneos (Khavkin & Ellis, 2011; Pérez-Sánchez *et al.*, 2018; Voegeli, 2012) (

Figura 1).

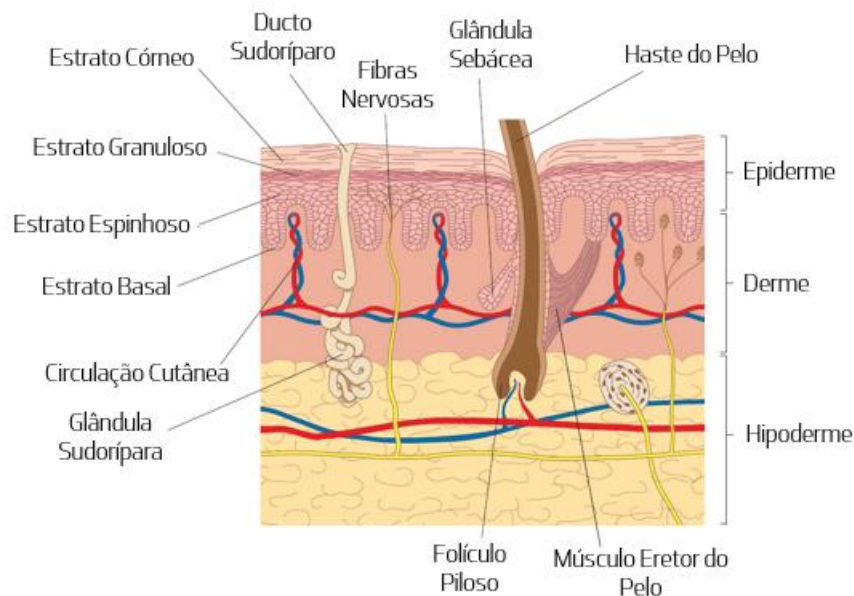


Figura 1. Estrutura da pele. Adaptado de (Voegeli, 2012).

A epiderme, camada mais superficial da pele, constitui uma barreira protetora semi-permeável entre o corpo e o ambiente circundante (Brohem *et al.*, 2011). Esta é uma camada composta maioritariamente por queratinócitos – aproximadamente 95% (Khavkin & Ellis, 2011), divididos entre quatro estratos: córneo, granuloso, espinhoso e basal (Voegeli, 2012). Além destas células, estão também presentes melanócitos, responsáveis pela pigmentação, bem como células de Langerhans, com efeito mediador da resposta imunológica e células de Merkel, associadas a terminações nervosas sensoriais e que funcionam como mecanorreceptores (Brohem *et al.*, 2011; Khavkin & Ellis, 2011).

Os queratinócitos são formados no estrato basal e migram gradualmente até às camadas superiores, num processo de diferenciação, em que atingem a camada córnea como células planas,

mortas e anucleadas (Voegeli, 2012). Deste modo, a epiderme é uma camada biologicamente ativa e em constante renovação (Khavkin & Ellis, 2011; Wong *et al.*, 2016).

A membrana basal separa a epiderme da derme (Brohem *et al.*, 2011), sendo esta dividida em duas zonas distintas: derme papilar superior e derme reticular inferior (Khavkin & Ellis, 2011; Wong *et al.*, 2016). A derme é formada por tecido conjuntivo, cujo maior constituinte é o colagénio, sintetizado por fibroblastos (Khavkin & Ellis, 2011), desempenhando um papel fundamental na flexibilidade (Brohem *et al.*, 2011), espessura (Baumann, 2010) e resistência da pele (Khavkin & Ellis, 2011; Wong *et al.*, 2016).

A derme papilar, por sua vez, é localizada logo abaixo da junção dermo-epidérmica e forma projeções cónicas ascendentes que favorecem a adesão entre a derme e a epiderme (Khavkin & Ellis, 2011; Wong *et al.*, 2016). Esta é uma camada composta por fibras de colagénio de diâmetro menor (Wong *et al.*, 2016), elastina, vasos sanguíneos, ligações nervosas e uma elevada abundância de fibroblastos (Khavkin & Ellis, 2011).

Já a derme reticular contém fibras de colagénio compactadas, fibras de elastina mais espessas, bem como uma rede nervosa e vascular (Khavkin & Ellis, 2011; Wong *et al.*, 2016).

A camada mais profunda da pele corresponde à hipoderme, localizada abaixo da derme e acima do músculo subjacente. As células principais da hipoderme são adipócitos, mas encontram-se ainda fibroblastos e macrófagos (Khavkin & Ellis, 2011; Wong *et al.*, 2016). Esta camada apresenta uma função de proteção contra lesões mecânicas, bem como de reserva energética (Khavkin & Ellis, 2011).

Por outro lado, a pele contém terminações nervosas e recetores sensoriais, responsáveis pela deteção de estímulos de toque, vibração, pressão, temperatura, dor e prurido (Khavkin & Ellis, 2011).

Os anexos cutâneos são estruturas especializadas, localizadas principalmente na derme e hipoderme, mas ligadas à epiderme (Khavkin & Ellis, 2011). Estes consistem em folículos pilosos, glândulas sebáceas, que intervêm na produção de sebo, glândulas sudoríparas apócrinas, com um papel na produção de odores e sudoríparas écrinas, responsáveis pela produção de suor (Voegeli, 2012).

A aparência e função da pele sofre mudanças profundas com o aumento da idade cronológica e, crucialmente, com a exposição cumulativa a fatores externos (Naylor *et al.*, 2011). O envelhecimento cutâneo é, assim, um processo multifatorial e complexo (Voegeli, 2012), que resulta de dois mecanismos sinérgicos: envelhecimento intrínseco ou cronológico, processo natural que ocorre em todos os tecidos do corpo com o passar do tempo; e envelhecimento extrínseco, causado pela exposição repetida a agentes externos prejudiciais, especialmente a raios UV, dieta inapropriada, poluição e toxinas (Cavinato *et al.*, 2017; Pérez-Sánchez *et al.*, 2018).

1.2. Stress oxidativo e o papel dos antioxidantes

Os radicais livres e oxidantes desempenham um duplo papel como compostos tóxicos e benéficos, uma vez que podem ser úteis ou prejudiciais ao corpo (Pham-Huy *et al.*, 2008). Estas

substâncias podem ser geradas por via endógena, como resultado da ativação de células imunes, inflamação, stress, exercício físico excessivo, isquemia, infecção ou cancro. Contudo, podem também surgir como resultado da influência de fatores exógenos, seja a exposição aos raios UV, como também a poluição ambiental, tabaco, radiação, consumo de álcool e exposição a certos fármacos, como ciclosporina, tacrolimus, gentamicina e bleomicina, bem como a metais pesados ou de transição como o cádmio, arsénio, mercúrio, chumbo e ferro (Baek & Lee, 2016; Baumann, 2010; Pham-Huy *et al.*, 2008).

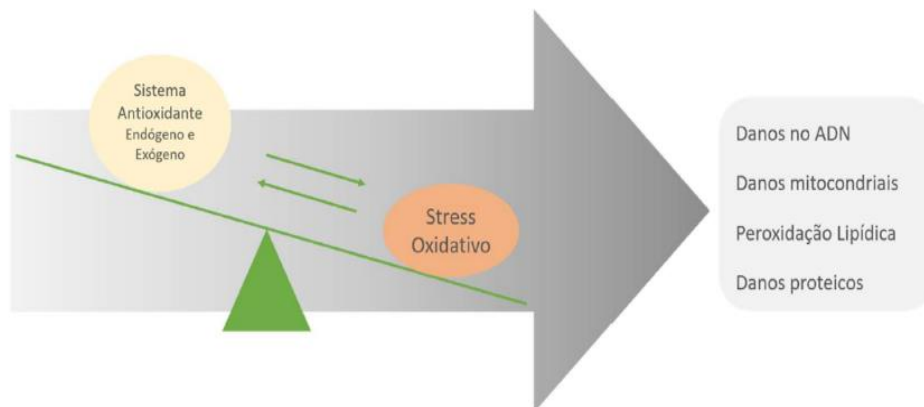


Figura 2. Consequências fisiológicas do stress oxidativo, adaptado de Baek & Lee, 2016.

Os radicais livres, como as espécies reativas de oxigénio (ROS), são compostos formados quando moléculas de oxigénio se combinam com outras, produzindo um número anormal de eletrões (Baumann, 2010). A níveis baixos ou moderados, os ROS podem apresentar efeitos benéficos na resposta celular e função imune. Aliás, enquanto mecanismo de defesa, os fagócitos libertam radicais livres para destruir os patogénios invasores. Além disso, têm ainda um papel importante na regulação das cascatas de sinalização em vários tipos de células, incluindo fibroblastos, células endoteliais, células musculares lisas vasculares, miócitos cardíacos e tecido tireoidiano. Assim, estes compostos são de facto fundamentais para a vida humana (Pham-Huy *et al.*, 2008).

Contudo, quando o equilíbrio entre os radicais livres e os antioxidantes favorece os primeiros, como demonstrado na Figura 2, estes participam no processo patológico de stress oxidativo (Pai *et al.*, 2014; Petruk *et al.*, 2018), podendo danificar o ADN, membranas lipídicas, estruturas de colagénio e funções mitocondriais (Baek & Lee, 2016). Este processo desempenha um papel importante no envelhecimento bem como no desenvolvimento de doenças crónicas e degenerativas, como cancro, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares (Pham-Huy *et al.*, 2008). Para além disso, no que toca a afeções cutâneas, as alterações na epiderme associadas aos danos no Ácido desoxirribonucleico (ADN) e ao stress oxidativo levam à diminuição da taxa de renovação celular, diferenciação e organização do estrato córneo, o que acaba por afetar a função barreira da pele (Markiewicz & Idowu, 2019).

Neste contexto, surgem os antioxidantes, com um importante papel no corpo humano para reduzir os processos oxidativos e os efeitos negativos dos radicais livres (Gulcin, 2020). Estes compostos podem exercer o seu efeito nos sistemas biológicos através de diferentes mecanismos incluindo a doação de elétrons, quelação de íons metálicos ou através da regulação da expressão de genes (Lobo *et al.*, 2010), sendo normalmente classificados como endógenos e exógenos (Baek & Lee, 2016).

Os antioxidantes endógenos são produzidos naturalmente pelo metabolismo corporal, como o ácido lipoico, glutatona, L-arginina, coenzima Q10, melatonina, ácido úrico, bilirrubina, proteínas quelantes de metais, transferrina, entre outros. Já os antioxidantes exógenos são compostos que não podem ser produzidos pelo corpo e, portanto, devem ser obtidos através da alimentação ou suplementação, como a vitamina C, vitamina E, carotenóides, flavonóides, ácidos gordos ómega 3 e 6, bem como alguns oligoelementos (selênio, manganês e zinco) (Pham-Huy *et al.*, 2008).

No contexto cutâneo, produtos contendo antioxidantes tópicos são atualmente comercializados para a prevenção do envelhecimento e dos danos cutâneos mediados pelos raios UV, bem como cuidados para as rugas e eritemas causados pela inflamação (Baumann, 2010).

Para que sejam considerados biologicamente ativos, os produtos administrados por via tópica devem ser absorvidos pela pele e distribuídos até ao tecido alvo na sua forma ativa e permanecer o tempo suficiente para exercer os efeitos desejados. Contudo, alguns antioxidantes são bastante instáveis e, portanto, uma das tarefas mais importantes é estabilizar os ingredientes na formulação e acondicionar de forma a minimizar a exposição ao ar e luz (Baumann, 2010).

1.3. Importância das plantas medicinais no cuidado cutâneo

Os produtos naturais obtidos a partir de plantas aromáticas e medicinais têm suscitado grande interesse para as indústrias farmacêutica e cosmética (Rocha *et al.*, 2021). Em países em desenvolvimento, considerando as condições económicas e a sua disponibilidade, as plantas são mesmo a principal fonte medicinal para diversas doenças (Ghlissi *et al.*, 2016). Os extratos de plantas revelam, assim, oportunidades ilimitadas para a descoberta de novos ativos devido à sua diversidade química (Sasidharan *et al.*, 2011).

No contexto cutâneo, as plantas medicinais têm vindo a ser tradicionalmente utilizadas em diversas doenças de pele, seja em monoterapia, como tratamento complementar ou em combinação com a medicina ocidental (Li *et al.*, 2019; Maleš *et al.*, 2019). Para além disso, esta busca por complementos terapêuticos é uma tendência emergente devido à consciência quanto aos potenciais efeitos secundários que os compostos sintéticos podem causar (Maleš *et al.*, 2019).

As plantas produzem vários metabolitos que contribuem para a sua autodefesa, por exemplo, contra as radiações UV, sendo que estas moléculas podem ser utilizadas como antioxidantes naturais (Petruk *et al.*, 2018), pela sua capacidades de proteção documentada para neutralizar o dano oxidativo

(Markiewicz & Idowu, 2019). De facto, nos últimos anos, tem vindo a aumentar o interesse na identificação de antioxidantes naturais, especialmente de origem vegetal (Gulcin, 2020). Aliás, a utilização de antioxidantes naturais, não só na indústria cosmética, como também na área alimentar e terapêutica, é considerada uma alternativa promissora aos antioxidantes sintéticos, no que diz respeito ao baixo custo e à ausência de efeitos prejudiciais ao corpo humano (Lobo *et al.*, 2010). Dentro destes compostos, surgem os polifenóis (catequinas, flavonóides dos quais isoflavonas), compostos terpénicos (diterpenos e monoterpenos) e ácidos fenólicos, cuja propriedade antioxidante é determinada pela estrutura química (Markiewicz & Idowu, 2019). Nos últimos anos, vários estudos reportaram a potencial eficácia das plantas medicinais chinesas no tratamento de doenças pigmentares cutâneas, tanto pelo seu efeito na redução da melanogénese como as raízes de *Panax ginseng* (Jiang *et al.*, 2017) e de *Withania somnifera* L. (Nakajima *et al.*, 2012), mas também pelo aumento da melanogénese como as partes aéreas de *Eclipta prostrata* L. (Xu *et al.*, 2017) e frutos de *Cornus officinalis* (An *et al.*, 2015). Já no que toca à cicatrização de feridas, são várias as plantas amplamente utilizadas, sendo disso exemplo: aloé vera, mimosa, equinácia, camomila, ginseng, chá verde, papaia, jojoba, óleo de árvore do chá, alecrim, limão, aveia e ginkgo biloba (Pazyar *et al.*, 2014). Recomendada para o tratamento de doenças cutâneas como dermatoses, escoriações, queimaduras, cicatrizes ou eczema, a *Centella asiatica* é uma planta também utilizada em cosméticos (Bylka *et al.*, 2014). Por outro lado, no contexto das doenças cutâneas autoimunes foi verificada a utilização de mais de 50 plantas medicinais para o tratamento e redução das complicações da vitiligo na Medicina Tradicional Persa (Maione *et al.*, 2016).

O potencial da utilização de compostos naturais para aplicações cutâneas é assim cada vez mais evidente para formulações cosméticas de uso tópico (Cavinato *et al.*, 2017).

1.4. *Artemisia campestris*

O género *Artemisia* é um dos maiores e mais amplamente distribuídos da família Asteraceae na Europa e no Norte de África (Bakchiche *et al.*, 2019).

Comumente denominada de “madorneira” ou “erva-lombrigueira” em Portugal (Pereira *et al.*, 2018), *Artemisia campestris* L., apresentada na Figura 3, é uma espécie perene, que consiste em diversas subespécies e variedades, podendo atingir entre 30 a 150 centímetros de altura, com hastes ramificadas e ascendentes em forma de panícula (Dib *et al.*, 2017; Dib & El Alaoui-Faris, 2019).

Devido ao seu crescimento em condições desfavoráveis, desenvolveu várias estratégias para lidar com o elevado stress ambiental, como a síntese de moléculas altamente antioxidantes (Rocha *et al.*, 2021). De acordo com a literatura, as espécies de *Artemisia* revelaram a presença de diversas classes de metabolitos secundários, como terpenóides, flavonóides, cumarinas, glicosídeos, esteróis e poliacetilenos (Tan *et al.*, 1998).

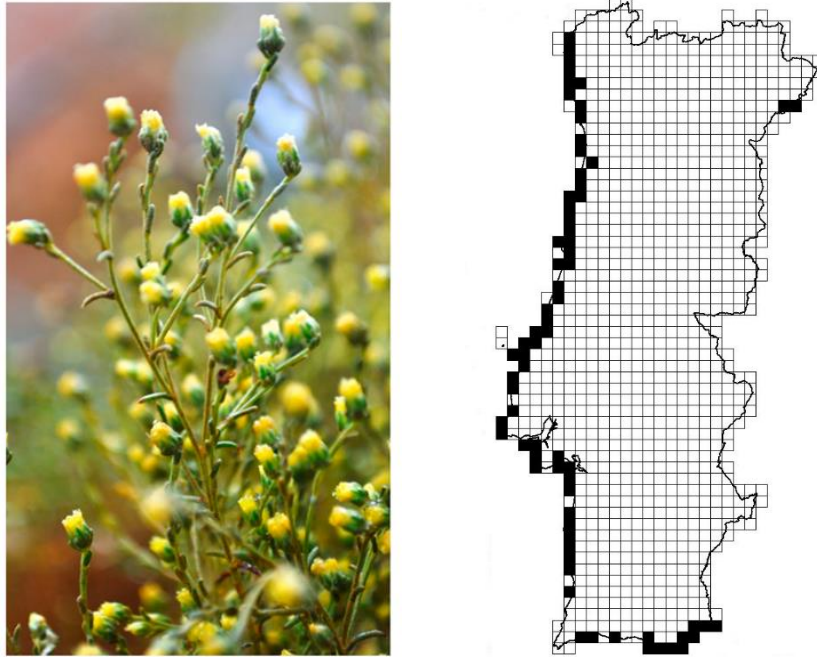


Figura 3. A) Fotografia de *Artemisia campestris* L., por Ali Berraaouan, adaptado de Dib & El Alaoui-Faris, 2019. B) Mapa da distribuição de *Artemisia campestris* em Portugal (Carapeto *et al.*, 2022).

Assim, quanto à composição fitoquímica da planta *A. campestris*, os extratos aquosos de folhas demonstraram a presença de polifenóis, flavonóides e taninos (Sefi *et al.*, 2010). Para além disso, a análise do seu óleo essencial permitiu ainda identificar 31 compostos terpénicos (Dib *et al.*, 2017). Relativamente aos extratos hidroalcoólicos de partes aéreas, estes demonstraram também a presença de compostos fenólicos, dentre os quais, flavonóides, como flavonas, flavonóis, flavanonas e dihidroflavonóis, (Bakchiche *et al.*, 2019). Encontram-se, também, descritas diversas atividades biológicas como antioxidante, antidiabética, anti-hiperlipidémica, anti-inflamatória, anti-hipertensora, inseticida, antibacteriana, anti-mutagénica, anti-tumoral, além dos seus efeitos protetores em órgãos vitais (hepatoprotetores, nefroprotetores, neuroprotetores e gastroprotetores) (Dib *et al.*, 2017; Dib & El Alaoui-Faris, 2019). O seu efeito antioxidante é demonstrado por diversos flavonóides, entre eles a quercetina e miricetina, conhecidas pela sua proteção contra o stress oxidativo (Dib & El Alaoui-Faris, 2019).

Neste sentido, a *A. campestris* surge como uma fonte de compostos bioativos, representando uma oportunidade a explorar em diferentes segmentos comerciais como a indústria farmacêutica, cosmética e alimentar (Pereira *et al.*, 2018).

Para além disso, a relevância no cuidado cutâneo da planta *A. campestris* é evidente considerando as diversas aplicações na medicina tradicional: utilização das partes aéreas em queimaduras e eczema (Sassi *et al.*, 2007); utilização sob a forma de infusão reportada no tratamento do eczema e de infeções do couro cabeludo (Shemluck, 1982); utilização de infusões e decocções para casos de picadas de cobra e escorpião (Mechaala *et al.*, 2021); aplicação no cuidado cutâneo de feridas e no tratamento da acne

(Karabegović *et al.*, 2011); atividade cicatrizante de feridas (Hammiche & Maiza, 2006; Ouelbani *et al.*, 2016); e utilização em micoses e na caspa (Hammiche & Maiza, 2006).

Num contexto *in vitro*, em fibroblastos de rato da linhagem celular NIH/3T3, o óleo essencial de *A. campestris* demonstrou uma maior percentagem de cicatrização da área ferida (115,9%), em comparação com o meio de cultura (controlo negativo); contudo, inferior à alantoína, utilizada como controlo positivo numa solução de 2 µg/mL (139,6%). Assim sendo, confirmou-se o potencial do óleo essencial na reparação da derme. Além disso, a toxicidade do óleo essencial para os fibroblastos foi também avaliada com recurso ao ensaio do brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio (MTT), tendo sido revelada a sua não interferência na viabilidade celular. Deste modo, a não toxicidade para os fibroblastos revelou ainda o potencial quanto à incorporação em formulações farmacêuticas de aplicação tópica (Rocha *et al.*, 2021).

Já num contexto de estudo *in vivo*, em ratos, foi realizada uma avaliação do efeito cicatrizante de feridas e a atividade anti-inflamatória do extrato aquoso de folhas de *A. campestris* (10%). Utilizando três grupos com diferentes tratamentos (1 mL/kg de solução salina como controlo, ácido acetilsalicílico como medicamento de referência na concentração de 150 mg/kg e 200mg/kg de extrato aquoso), foi medido o edema após injeção subcutânea de carragenina. O edema induzido por carragenina em ratos é um método comumente utilizado para determinar a atividade anti-inflamatória uma vez que a carragenina é um polissacarídeo que causa a produção e libertação de óxido nítrico no local lesado, sendo este um mediador importante na inflamação aguda (Prajapati *et al.*, 2014). Neste seguimento, foi demonstrado o efeito anti-inflamatório do extrato em tecidos com edema através da análise histológica dos tecidos. Para além disso, foi ainda verificada uma redução significativa da contagem de células inflamatórias em tecido muscular, nomeadamente macrófagos e neutrófilos com um valor inferior no grupo tratado com o extrato em comparação com os restantes. Por outro lado, foram utilizados quatro grupos com diferentes tratamentos: solução salina como controlo, glicerol como matriz de diluição do extrato, creme Cicaflora® como produto de referência e o extrato aquoso de *A. campestris* para avaliar o efeito cicatrizante da planta. Neste seguimento, após 12 dias a avaliação macroscópica demonstrou que a zona lesada do grupo tratado com extrato de *A. campestris* se encontrava totalmente cicatrizada, enquanto os restantes grupos apresentavam ainda ferida aberta. Para além disso, o estudo histológico revelou secções de tecido normais das zonas lesadas dos ratos do grupo tratado com extrato, enquanto a avaliação dos tecidos de ratos tratados com controlo e glicerol demonstrou uma camada epidérmica estruturalmente pobre, fibras de colagénio desorganizadas e a presença massiva de células inflamatórias na derme. Foi assim demonstrado o potencial do extrato de *A. campestris* na promoção da cicatrização de feridas (Ghliissi *et al.*, 2016).

2. Objetivos

O presente trabalho possui como objetivo avaliar a atividade antioxidante de extratos (hidroalcolico e aquoso) de folhas de *A. campestris*, bem como a sua potencial incorporação em formulações de aplicação cutânea, através da avaliação da estabilidade físico-química de um extrato numa emulsão base comercial (O/A).

3. Materiais e Métodos

3.1. Reagentes

O dimetilsulfóxido (DMSO), cloreto férrico, reagente Dragendorff, carbonato de sódio, reagente Folin Ciocalteu, sulfato ferroso e hidróxido de sódio foram obtidos pela VWR Chemicals® (Radnor, USA). Por sua vez, a ferrozina, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), quercetina, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio (MTT), tripsina-EDTA, meio RPMI e ácido gálico foram fornecidos pela Sigma-Aldrich® (St. Louis, USA). No que toca ao etanol, clorofórmio e ácido sulfúrico, estes foram obtidos pela Fisher Chemical® (Waltham, USA). Finalmente, o acetato de cobre foi fornecido pela Dr. Paul Lohmann® (Emmerthal, Alemanha), o soro bovino fetal da Biochrom KG (Berlim, Alemanha) e o creme de base O/A obtido da Guinama® (Valencia, Espanha) (Anexos 1 e 2).

3.2. Material vegetal

A espécie vegetal utilizada no estudo, *A. campestris*, foi recolhida em julho de 2019, na zona da Ria de Aveiro. Posteriormente, foi identificada por um especialista da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto com base na literatura e por comparação com outras amostras de herbário, tendo-lhe sido atribuído um número de voucher. Após a identificação, a planta foi limpa e submetida a um processo de secagem em estufa, a 40º C durante 3 dias, sendo acondicionada à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, para posterior preparação dos extratos (aquoso e hidroalcoólico).

3.3. Preparação dos Extratos

O processo de extração aquosa baseou-se no método descrito por Ghilissi *et al.*, 2016, com pequenas alterações. Os extratos foram preparados por maceração com agitação contínua (500 rpm) de 20 g de parte aérea da planta com 200 mL de água, protegidos da luz, durante 24h, à temperatura ambiente.

Relativamente à extração hidroalcoólica, esta foi realizada segundo o descrito por Al Jahid *et al.*, 2016, com pequenas alterações. Assim, os extratos foram preparados por maceração de 20 g da parte aérea da planta com 200 mL de etanol a 80% (V/V), à temperatura ambiente durante 72 h, protegidos da luz.

Posteriormente, a solução hidroalcoólica foi filtrada por gravidade e concentrada em evaporador rotativo (Ika RV8, VWR) a 40º C sob pressão reduzida de modo a remover o solvente orgânico e, por fim, ambos os extratos foram liofilizados (Liofilizador Labconco Freezone, VWR). As amostras foram então armazenadas a -80º C para posteriores análises.

3.4. Pesquisa Bibliográfica

A estratégia de pesquisa bibliográfica teve como suporte as bases de dados PubMed e ScienceDirect.

De modo a reunir os estudos previamente realizados relativamente à planta *A. campestris*, suas atividades, efeitos biológicos e aplicabilidade na pele, recorreu-se à combinação das palavras-chave: “*Artemisia campestris*” e/ou “skin”, sem limitação temporal, publicados em língua inglesa e portuguesa.

Para além disso, foram ainda pesquisados trabalhos anteriores que avaliassem a atividade antioxidante, viabilidade celular e estabilidade de formulações cosméticas, através da utilização destes termos em língua inglesa, com o objetivo de reunir metodologias exploradas e resultados obtidos.

A bibliografia obtida foi analisada individualmente quanto à inclusão e relevância para o presente estudo.

3.5. Screening Fitoquímico

O *screening* fitoquímico foi realizado de modo a identificar compostos fenólicos, polifenóis, taninos, flavonóides, diterpenóides, terpenóides e alcalóides nos extratos. Todos os ensaios foram realizados em triplicado e os resultados expressos como presença (+) ou ausência (-) dos respetivos grupos de metabolitos secundários.

3.5.1. Compostos Fenólicos

Foram adicionadas sete gotas de uma solução aquosa de cloreto férrico a 5% a 2 mL de extrato. A coloração azul escura indica a presença destes compostos (Tiwari *et al.*, 2011).

3.5.2. Polifenóis

A 100 µL de extrato foram adicionados 500 µL de Folin-Ciocalteu (1:10 V/V) e 400 µL de uma solução aquosa de carbonato de sódio a 7,5%. Em seguida, incubou-se à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, durante 2 h. O aparecimento de uma coloração azul escura é indicativo da presença de polifenóis (Georgé *et al.*, 2005).

3.5.3. Flavonóides

Os extratos foram tratados com 2 mL de uma solução aquosa de hidróxido de sódio (2%). O surgimento de uma coloração amarela indica a presença de flavonóides (Gul *et al.*, 2017).

3.5.4. Taninos

A 2,5 mL de extrato foram adicionadas sete gotas de uma solução aquosa de cloreto férrico a 1%. A presença de taninos é indicada através do surgimento de uma coloração azul acastanhada (Aziz, 2015).

3.5.5. Diterpenóides

A 1 mL de cada extrato foram adicionadas sete gotas de solução aquosa de acetato de cobre a 5%. O aparecimento de uma coloração verde esmeralda indica a presença de diterpenóides (Tamokou *et al.*, 2017).

3.5.6. Terpenóides

Os extratos (3 mL) foram tratados com 1 mL de clorofórmio e, posteriormente, 1,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A formação de um anel vermelho acastanhado é indicativa da presença de terpenóides (Aziz, 2015).

3.5.7. Alcalóides

Para a identificação de alcalóides, foram acrescentadas duas gotas de reagente de Dragendorff a 2,5 mL de cada extrato. A presença destes compostos é revelada pela formação de um precipitado avermelhado (Tiwari *et al.*, 2011).

3.6. Avaliação da atividade antioxidante

3.6.1. Atividade de quelação de ferro

A atividade de quelação do ferro foi avaliada conforme descrito por Kumaran & Joel Karunakaran, 2006 com algumas modificações (Oliveira *et al.*, 2018).

Adicionaram-se, em placa de 96 poços, 50 µL de cada extrato em diferentes concentrações a 50 µL de solução de sulfato ferroso (0,12 mM) e o mesmo volume de ferrozina (0,6 mM). Em seguida, a placa foi agitada vigorosamente e mantida durante 10 minutos à temperatura ambiente, ao abrigo da luz. Os resultados foram obtidos a partir de três ensaios independentes, tendo sido utilizado o EDTA como controlo positivo. As absorvâncias das soluções foram lidas a 570 nm UV/vis, utilizando o espectrofotómetro leitor de placas (Dynex Technologies MRX II Microplate Reader). A capacidade dos extratos para quelar os iões ferrosos é calculada em relação ao controlo, de acordo com a fórmula:

$$\text{Atividade quelante (\%)} = (\text{Absorv\^ancia controle} - \text{Absorv\^ancia amostra}) / \text{Absorv\^ancia controle} \times 100$$

A capacidade antioxidante foi expressa em IC₅₀, concentra\c3o\c3o da amostra necess\^aria para quelar 50% dos i\^oes ferrosos.

3.6.2. Determina\c3o\c3o dos compostos fen\^olicos totais

O teor de compostos fen\^olicos total foi determinado seguindo o procedimento descrito por Singleton & Rossi, 1965, com algumas modifica\c3o\c3es (Alves *et al.*, 2010).

Foram adicionados 500 μ L de extrato dilu\^ido (1:6) a 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (1:10 V/V) e 2 mL de solu\c3o\c3o aquosa de carbonato de s\^odio a 7,5%. A mistura foi incubada a 45°C, durante 15 minutos e, posteriormente, mantida durante 30 minutos \^a temperatura ambiente e ao abrigo da luz. As absorv\^ancias foram lidas a 765 nm em espectrof\^otometro UV-vis (Jenway 6300, VWR).

Foi utilizada uma solu\c3o\c3o de \^acido g\^alico para construir uma reta de calibra\c3o\c3o, de modo a obter a correla\c3o\c3o entre a concentra\c3o\c3o padr\^ao e a da amostra (gama de linearidade: 5-100 mg/mL; $r^2 = 0,9982$). Os resultados foram obtidos a partir de tr\^es ensaios independentes e s\^ao expressos em miligramas por equivalentes de \^acido g\^alico (EAG) por grama de extrato seco.

3.6.3. Capacidade de capta\c3o\c3o de radicais DPPH

A capacidade de redu\c3o\c3o do radical DPPH foi aferida atrav\^es do m\^etodo descrito por Silva *et al.*, 2005, com algumas adapta\c3o\c3es (Oliveira *et al.*, 2018).

Diretamente em placa de 96 po\c3os, preparou-se 17,50 μ L de amostra em diferentes concentra\c3o\c3es e 175 μ L de solu\c3o\c3o stock de DPPH (90 μ M), em cada um dos po\c3os. Os resultados foram obtidos a partir de tr\^es ensaios independentes, tendo sido utilizada a quercetina como controle positivo. As absorv\^ancias foram lidas de 5 em 5 min, por espectroscopia UV/vis, a 515 nm, durante 2h, utilizando o espectrof\^otometro leitor de placas (Dynex Technologies MRX II Microplate Reader). A capacidade de capta\c3o\c3o do radical pelos extratos foi calculada, em rela\c3o\c3o ao controle, utilizando a f\^ormula:

$$\% \text{ Capacidade de capta\c3o\c3o de radicais} = (\text{Absorv\^ancia DPPH} - \text{Absorv\^ancia amostra}) / \text{Absorv\^ancia DPPH} \times 100$$

A capacidade antioxidante foi expressa em IC₅₀, concentra\c3o\c3o da amostra necess\^aria para captar 50% dos radicais DPPH.

3.7. Viabilidade celular

Para avaliar a influência dos extratos na viabilidade de células cutâneas, foi utilizada uma linhagem de células de queratinócitos humanos imortalizados não tumorais, HaCaT, gentilmente cedida para trabalhos de investigação pela Doutora Francisca Rodrigues (LAQV REQUIMTE).

As células foram cultivadas em placas de cultura de 96 poços, de acordo com a concentração recomendada: 1×10^4 células/cm². As culturas foram incubadas sob condições de 37°C e 5% de dióxido de carbono (CO₂). Após 40 horas, foram adicionadas várias concentrações de extrato (5 µg/mL a 1000 µg/mL) e 24 horas depois, estimada a atividade metabólica das células através do ensaio colorimétrico MTT, descrito por Mosmann, 1983. Para este ensaio, a solução stock de MTT foi adicionada a todos os poços e as placas incubadas a 37°C (e 5% de CO₂) durante 4 horas. Em seguida, foram aspirados cada um dos poços e adicionados 100 µL de uma mistura de dimetilsulfóxido (DMSO) e etanol (1:1). Após a solubilização dos cristais, as absorvâncias das placas foram lidas por espectrofotometria UV-vis, a 570 nm, utilizando o espectrofotómetro leitor de placas (Dyner Technologies MRX II Microplate Reader).

Os resultados foram expressos em percentagem da atividade metabólica celular do controlo - células sem extrato (Rodrigues *et al.*, 2018).

3.8. Estabilidade Físico-Química

Procedeu-se ainda a ensaios de estabilidade acelerada, adaptados ao tempo e equipamentos existentes. Para tal, foram seguidas as recomendações europeias quanto ao tipo de ensaios a realizar (Cosmetics Europe, 2004; European Medicines Agency, 2003) (estas entidades não apresentam protocolos específicos).

Primeiramente, a totalidade de extrato aquoso foi incorporada na totalidade de creme base O/A a uma concentração de 0,3% conforme as orientações do fornecedor. Assim, foram pesados os compostos e dissolvido o extrato em água. Em seguida, este foi adicionado diretamente ao creme, homogeneizando, com a ajuda de um emulsificador (Unguator, Instituto Galénico) (homogeneização à velocidade máxima do equipamento, por 2 minutos). A emulsão obtida foi posteriormente distribuída em alíquotas de 30 g em frascos de vidro transparente, de capacidade total de 50 ml. As formulações foram então mantidas durante um período de 56 dias em três diferentes condições de conservação: estufa a temperatura 40°C, temperatura ambiente ao abrigo da luz e temperatura ambiente com luz incidente. Foram ainda mantidos sob as mesmas condições frascos de controlo, contendo apenas o creme base O/A.

Foram realizados cinco momentos de análise: tempo 0 (inicial), tempo 1 (14 dias), tempo 2 (28 dias), tempo 3 (42 dias) e tempo 4 (56 dias), em que foram retiradas amostras das condições de armazenamento e avaliadas as suas características organolépticas, estabilidade física, pH e viscosidade, a partir de três ensaios independentes.

As características organolépticas como odor, aspecto e cor, bem como as alterações físicas do material de embalagem foram observadas sob as mesmas condições de temperatura e luminosidade.

De modo a determinar a estabilidade física da emulsão, recorreu-se à centrifugação de 2 g de amostra a 5000 rpm durante 20 minutos (dois ciclos de 10 minutos), utilizando centrífuga (VWR, VWR) e observada a presença ou ausência de duas fases discerníveis (Mohsin & Akhtar, 2017).

A determinação da condição ácida ou básica das amostras foi realizada utilizando o método potenciométrico (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004), recorrendo ao potenciômetro (Symphony, VWR).

Por fim, a viscosidade foi avaliada conforme descrito por Uyama *et al.*, 2013, com algumas modificações. Assim, realizaram-se as medições recorrendo a um viscosímetro portátil (VP 1000M Series, Viscothec Hispania, S.L), a 20 rpm durante 1 minuto, tendo sido obtidos valores em mPas. O *spindle* foi selecionado de acordo com as instruções do fornecedor, de modo a permitir leitura com valores de torque compreendidos entre 10 e 100%.

3.9. Análise Estatística

Os resultados do *screening* fitoquímico, atividade antioxidante e estabilidade foram obtidos a partir de, pelo menos, três ensaios independentes. Estes foram expressos como média \pm desvio padrão, à exceção do ensaio qualitativo *screening* que foi apresentado como presença (+) ou ausência (-).

Os dados resultantes dos ensaios de captação do radical DPPH foram analisados e comparados com recurso ao teste ANOVA seguido pelo teste de Dunnett para comparações múltiplas, enquanto os resultados obtidos do teste de quelação de íões metálicos e compostos fenólicos totais foram comparados com o teste ANOVA. Por sua vez, os dados obtidos através da medição de pH e viscosidade foram analisados e comparados com recurso ao teste ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni.

A análise estatística foi realizada no software GraphPad Prism® 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) e os valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significativos.

4. Resultados e Discussão

4.1. *Screening* Fitoquímico

As atividades biológicas estão intimamente relacionadas com os diferentes grupos de compostos presentes na planta (Dib & El Alaoui-Faris, 2019). Neste sentido, foi efetuado o *screening* fitoquímico aos extratos de *A. campestris*, um método de fácil implementação prática, com a finalidade de detetar a presença de grupos de compostos de interesse neste trabalho.

O *screening* fitoquímico permitiu, assim, realizar a análise qualitativa de diferentes grupos de compostos fitoquímicos, com diferentes solventes e tendo por base a aplicação de testes de coloração (I. M. C. Rodrigues et al., 2009), estando os resultados obtidos apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: *Screening* fitoquímico para extratos aquoso e hidroalcoólico de *Artemisia campestris*.

| Grupo de compostos | Extrato Aquoso | Extrato Hidroalcoólico |
|---------------------|----------------|------------------------|
| Compostos fenólicos | + | + |
| Polifenóis | + | + |
| Flavonóides | + | + |
| Taninos | + | + |
| Diterpenóides | + | + |
| Terpenóides | + | + |
| Alcalóides | + | + |

Os resultados são apresentados como presença (+) ou ausência (-), a partir de 3 ensaios independentes.

Tal como apresentado, existem evidências da presença de todos os grupos de compostos analisados, tanto no extrato aquoso como no extrato hidroalcoólico.

De um modo geral, os resultados obtidos vão de encontro a estudos anteriores, que referem a presença na planta de flavonóides, compostos fenólicos e terpénicos (Dib *et al.*, 2017; Rocha *et al.*, 2021). Relativamente ao extrato hidroalcoólico, estes resultados são apoiados por estudos anteriores que demonstram a presença de polifenóis (Al Jahid *et al.*, 2016), compostos fenólicos (Bakchiche *et al.*, 2019) e flavonóides (Al Jahid *et al.*, 2016; Bakchiche *et al.*, 2019). No que toca ao extrato aquoso, a presença de polifenóis, flavonóides e taninos já tinha sido demonstrada em estudos anteriores (Ghlissi *et al.*, 2016; Rocha *et al.*, 2021). Para além disso, verificou-se também a presença de alcalóides nos extratos, compostos estes que já demonstraram a sua eficácia na captação de radicais livres, revelando assim a sua importância no contexto da atividade biológica antioxidante (Zhao *et al.*, 2006).

4.2. Atividade antioxidante *in vitro*

A atividade antioxidante é, tal como referido anteriormente, um processo complexo que se traduz em diversos mecanismos (Lima *et al.*, 2006). Assim, é importante que esta atividade biológica seja avaliada com base em diferentes ensaios e mecanismos, tais como a capacidade de captação de radicais livres, capacidade de redução e quelação de iões metálicos (Shahidi & Zhong, 2015).

Assim, a potencial atividade antioxidante da planta, mais especificamente dos seus extratos, aquoso e hidroalcoólico, foi avaliada através da capacidade de quelação de iões ferro e captação de radicais DPPH, estando os resultados obtidos apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Atividade antioxidante dos extratos aquoso e hidroalcoólico da planta *Artemisia campestris*.

| | Ensaio DPPH (IC ₅₀) µg/mL | Quelação de Ferro (IC ₅₀) µg/mL |
|-------------------------------|---------------------------------------|---|
| Extrato hidroalcoólico | 213,66 ± 1,69 ^a | Sem dados/ não aplicável* |
| Extrato aquoso | 28,05 ± 1,51 ^a | 922,29 ± 37,83 ^b |
| Controlo positivo | 1,85 ± 0,18 ^a | 1,18 ± 0,01 ^b |

* na gama de concentrações testadas, não foi possível encontrar um valor de IC₅₀

Os controlos positivos utilizados nos ensaios DPPH e Quelação de Ferro foram, respetivamente, quercetina e EDTA.

Diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$) são representadas por diferentes letras.

O ensaio DPPH é utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de extratos de plantas, na medida em que a redução do DPPH é indicativa da capacidade dos extratos para captar radicais livres (Silva *et al.*, 2005). Este é um método que se baseia na capacidade do DPPH, um radical estável de coloração púrpura, reagir com doadores de hidrogénio. Na presença de substâncias antioxidantes, o mesmo recebe o ião hidrogénio, ficando assim reduzido e passando a ter uma coloração amarela (Tomei & Salvador, 2007).

Os extratos são considerados como tendo uma capacidade antioxidante elevada ou significativa com um IC₅₀ < 50 µg/mL, atividade antioxidante moderada com 50 < IC₅₀ < 100 µg/mL e uma capacidade antioxidante baixa com IC₅₀ > 100 µg/mL (Kuethe & Efferth, 2010).

De acordo com os resultados obtidos no ensaio DPPH, o extrato aquoso apresenta um valor de IC₅₀ significativamente mais baixo do que o extrato hidroalcoólico ($p < 0,05$), 28,05 ± 1,51 µg/mL, considerado uma capacidade antioxidante elevada, enquanto o extrato hidroalcoólico apresenta uma capacidade antioxidante baixa com um IC₅₀ = 213,66 ± 1,69 µg/mL.

Estudos anteriores avaliaram a capacidade antioxidante de *A. campestris maritima* através do ensaio DPPH. Neste contexto, foram apresentados resultados de IC₅₀ para extratos das raízes de obtidos através de infusão (390 ± 0,02 µg/mL), decocção (370 ± 0,02 µg/mL) e tintura (460 ± 0,02 µg/mL). Por outro lado, no caso das partes aéreas obtidas através de infusão foram obtidos valores de IC₅₀ de 330 ± 0,03 µg/mL, no caso de decocção 340 ± 0,03 µg/mL e 320 ± 0,01 µg/mL com o processo extrativo de

tintura (Pereira *et al.*, 2018). Contudo, os valores de IC₅₀ obtidos no presente estudo remetem para uma capacidade antioxidante maior. Estes resultados poderão ser suportados pelos grupos de compostos que se verificaram estar presentes através do *screening*, associados a esta atividade biológica, como é o caso dos compostos fenólicos, conhecidos pelo seu largo espectro de atividades benéficas à promoção da saúde nomeadamente as suas propriedades antioxidantes (Dzialis *et al.*, 2016). A não concordância entre os estudos anteriores referidos e o presente, poderá estar relacionada com as diferentes subespécies de *Artemisia*, bem como com a utilização de diferentes técnicas de extração. Na avaliação da atividade biológica de extratos de plantas, o processo extrativo utilizado e as variantes inerentes como tempo de contacto, temperatura, tamanho das partículas e solvente influenciam diretamente a qualidade e o rendimento dos compostos extraídos (Tchabo *et al.*, 2018; Zubairi *et al.*, 2014). Desta forma, a capacidade antioxidante de compostos antioxidantes naturais e extratos depende, não só da qualidade da fonte, como também dos processos e tecnologias utilizados para a sua extração (Gulcin & Alwasel, 2022).

Por sua vez, a capacidade de quelação de metais é normalmente considerada o método antioxidante mais comum (Gulcin & Alwasel, 2022). Alguns compostos com atividade antioxidante, como os flavonóides, são considerados poderosos quelantes metálicos, podendo assim prevenir ou retardar a oxidação lipídica induzida pelos iões metálicos (Shahidi & Zhong, 2015). Desta forma, os quelantes metálicos apresentam um papel importante não só no stress oxidativo, como também na peroxidação lipídica. Devido à sua reatividade e capacidade de formação de agentes secundários tóxicos, os peróxidos lipídicos são tidos como críticos para a progressão e regulação da inflamação, mas também de grande importância na morte celular através da indução da apoptose e em múltiplas patologias, como é o caso das doenças degenerativas cerebrais e do sistema nervoso central (Gaschler & Stockwell, 2017). A capacidade de quelação de metais é, então, utilizada como indicador da atividade antioxidante, em combinação com outros ensaios. Neste sentido, o método espectroscópico utilizado tem em consideração a afinidade de ligação entre o reagente – ferrozina – e o ião metálico – ferro (Gulcin & Alwasel, 2022), na medida em que a ferrozina forma um complexo púrpura com o ferro. Contudo, na presença de agentes quelantes, há uma interferência na formação desse complexo, reduzindo a sua coloração. Assim sendo, a medição da diminuição da cor permite obter uma estimativa da capacidade quelante (Adjimani & Asare, 2015).

Relativamente aos resultados obtidos no ensaio da quelação de ferro, não foi possível obter um valor de IC₅₀ para o extrato hidroalcoólico na gama de concentrações testada (10 µg/mL a 10000 µg/mL). Por sua vez, o extrato aquoso apresenta uma capacidade antioxidante baixa com um IC₅₀ = 922,29 ± 37,83 µg/mL. Em estudos realizados anteriormente, a capacidade de quelação dos iões metálicos dos extratos de *A. campestris maritima* demonstrou ser mais elevada. Para extratos obtidos através do processo de infusão, decocção e tintura das raízes, os resultados foram respetivamente 7,82 ± 0,37 mg/mL, 7,37 ± 0,34 mg/mL e superior a 10 mg/mL, enquanto para as partes aéreas 6,47 ± 0,35 mg/mL, 6,33 ± 0,43 e

superior a 10 mg/mL (Pereira *et al.*, 2018). Ainda assim, estes resultados apontam para uma maior capacidade quelante dos extratos aquosos de partes aéreas, tais como os obtidos no presente trabalho.

Para além disso, tanto no ensaio da quelação de ferro como no DPPH, verificou-se que os extratos apresentam uma diferença significativa relativamente ao controlo positivo utilizado – EDTA e quercetina, respetivamente. Este facto estará relacionado com a presença de diferentes compostos no extrato, ao contrário dos padrões utilizados que correspondem apenas a um composto. Uma vez que a atividade antioxidante está relacionada não só com a concentração, mas também com a estrutura e a interação entre os diferentes componentes (Stefanovic & Te, 2015), a diversidade de compostos presentes no extrato em estudo, bem como a interação entre os mesmos, poderá reduzir a atividade antioxidante, ainda que muitas substâncias isoladamente possuam uma capacidade antioxidante significativa.

Os compostos fenólicos têm vindo a ser associados a diversos efeitos biológicos, incluindo a atividade antioxidante, podendo atuar na captação de radicais livres, bem como na prevenção da sua formação (Boulanouar *et al.*, 2013). Neste sentido, procedeu-se à determinação dos compostos fenólicos totais, estando os resultados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Compostos fenólicos totais dos extratos aquoso e hidroalcoólico de *Artemisia campestris*.

| | Compostos fenólicos totais (mg EAG/g) |
|-------------------------------|--|
| Extrato hidroalcoólico | 276,27 ± 2,50 * |
| Extrato aquoso | 148,77 ± 3,64 * |

* diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$)

O ensaio de determinação dos compostos fenólicos totais utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu é um dos métodos mais antigos para a sua quantificação numa amostra, apresentando como vantagens a sua fácil aplicação prática e reprodutibilidade (Tomei & Salvador, 2007). Este método baseia-se na oxidação dos fenóis contidos nas amostras, em meio básico, promovendo a formação de iões óxido. Por sua vez, o ião formado reage com os ácidos que caracterizam o Folin-Ciocalteu (fosfotungstíco e fosfomolibdico) de tom amarelado, formando compostos de coloração verde, com intensa absorção na zona dos 750 nm (Tomei & Salvador, 2007).

De acordo com o obtido, o extrato alcoólico demonstra uma composição em termos de compostos fenólicos significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparado com o aquoso.

Ainda que não haja um valor estabelecido para definir uma concentração de compostos fenólicos elevada, alguns autores consideram que os extratos naturais podem ser considerados ricos nesses compostos quando o valor dos compostos fenólicos totais for superior a 20 mg EAG/g (Kähkönen *et al.*, 1999). Assim, ambos os extratos analisados de *A. campestris* demonstram apresentar uma elevada riqueza nestes compostos. Estes resultados são concordantes com estudos realizados anteriormente, em que tinham sido obtidos valores elevados de compostos fenólicos totais. Relativamente aos extratos

aquosos de folhas de *A. campestris*, Ghilissi *et al.* (2016) obtiveram um valor de $313,20 \pm 4,35$ mg EAG/g, sendo os compostos fenólicos os predominantes nos extratos analisados, enquanto Sefi *et al.*, 2010 apresentam um total de compostos fenólicos inferior de $31,33 \pm 1,87$ mg EAG/g, mas ainda assim considerado elevado (Ghilissi *et al.*, 2016; Sefi *et al.*, 2010). Por outro lado, na análise aos extratos hidroalcoólicos por Bakchiche *et al.* 2019, foi obtido um valor de compostos fenólicos totais de $102,09 \pm 1,65$ mg EAG/g (Bakchiche *et al.*, 2019).

Tem vindo a verificar-se uma tendência crescente na utilização da composição total de compostos fenólicos em estudos, tendo sido encontrada uma correlação linear entre o perfil de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante de produtos naturais (Tomei & Salvador, 2007). Contudo, no presente estudo, ainda que estejamos perante um extrato hidroalcoólico com maior riqueza em termos de compostos fenólicos, este facto não é determinante de uma maior atividade antioxidante uma vez que a atividade biológica em questão não está associada aos mesmos de forma exclusiva. De facto, um estudo anterior de Stefanovic & Te, 2015 demonstra que há uma correlação entre a capacidade de captação de radicais livres e, não só a composição em termos gerais de compostos fenólicos, como também de taninos e flavonóides especificamente (Stefanovic & Te, 2015).

Neste sentido e considerando a complexidade da atividade antioxidante, os resultados obtidos devem ser analisados em combinação com os restantes ensaios. Tendo em conta a maior capacidade de captação dos radicais DPPH, bem como a riqueza em compostos fenólicos, o extrato aquoso foi o selecionado para avaliação da viabilidade celular e, posteriormente, para avaliação da sua incorporação em formulações cosméticas.

4.3. Viabilidade celular

A avaliação preliminar da toxicidade pode ser realizada utilizando modelos *in vitro*, que abordam a sensibilidade de linhagens celulares de mamíferos a possíveis efeitos tóxicos dos extratos, fornecendo resultados rápidos, fiáveis e reduzindo assim os ensaios *in vivo* (Pereira *et al.*, 2018).

De modo a explorar a toxicidade preditiva e determinar as concentrações não tóxicas, o extrato aquoso de *A. campestris* foi testado quanto à citotoxicidade para uma linhagem celular de queratinócitos humanos HaCaT, e as viabilidades celulares resultantes são apresentadas na Figura 4.

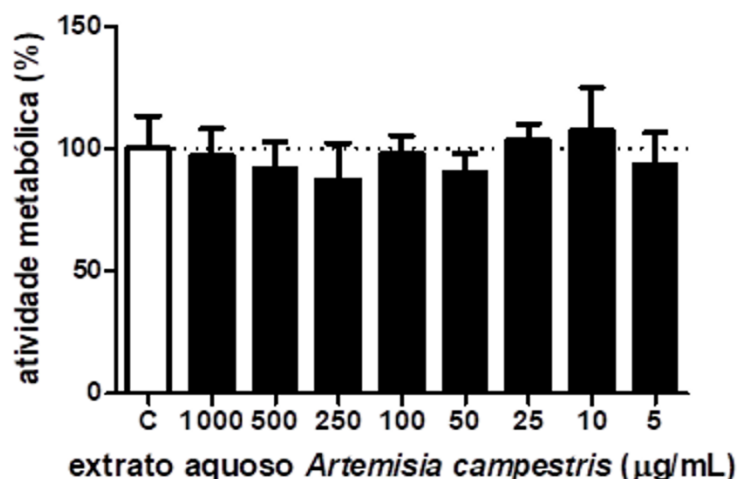


Figura 4. Toxicidade do extrato aquoso de *Artemisia campestris* em células HaCat com proliferação celular calculada através do ensaio MTT após 24h

Considerando os resultados obtidos e a sua análise através dos testes ANOVA unidirecional e de Dunnet, o extrato aquoso de *A. campestris* não revelou uma interferência significativa na proliferação celular na gama de concentrações testadas (5 µg/mL a 1000 µg/mL). Assim, não é demonstrada atividade tóxica, ou seja, esta análise preliminar de segurança sugere que a sua aplicação cutânea não estará relacionada com danos celulares diretos. Estes resultados são concordantes com os obtidos em estudos anteriores que demonstram um potencial efeito antioxidante e anti-inflamatório da água residual de hidrodestilação de *A. campestris*, sem efeito tóxico para fibroblastos de rato (NIH/3T3) (Rocha *et al*, 2021).

4.4. Estabilidade Físico-Química

A estabilidade de uma emulsão pode ser influenciada por fatores ambientais, como a temperatura ou humidade, tendo como consequência alterações físicas e químicas da formulação (Mohsin & Akhtar, 2017). Neste contexto, os ensaios de estabilidade acelerada são uma prática comum que permite a previsão da estabilidade dos produtos cosméticos a longo prazo (Cosmetics Europe, 2004).

No presente trabalho, as formulações contendo extrato aquoso de *A. campestris* foram testadas em triplicado, sendo sujeitas a diferentes condições de temperatura e exposição à luz. Em cinco momentos distintos, procedeu-se à análise das características organolépticas (cor, odor e aspeto), pH, viscosidade e estabilidade física das formulações, sob as mesmas condições de temperatura e luminosidade.

A análise organoléptica, por sua vez, é uma forma fácil e acessível de avaliar a qualidade de uma amostra e detetar visualmente o surgimento de alterações. Para além disso, estas características referem-

se ao perfil sensorial do produto e estão relacionadas com a aceitação do mesmo pelo consumidor (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004). Os caracteres organoléticos, nomeadamente a cor, odor e o aspeto geral das formulações foram analisados no tempo 0, estando os resultados obtidos na Tabela 4.

Tabela 4: Avaliação inicial dos caracteres organoléticos de formulações com extrato aquoso de *Artemisia campestris* (0,3%) e respetivo controlo (creme base O/A).

| Caracteres organoléticos | Formulação com extrato | Creme base O/A |
|---------------------------------|--|-------------------------------|
| Cor | Bege | Branco |
| Odor | Característico | Inodoro |
| Aspeto | Uniforme, levemente fluido e brilhante | Uniforme, cremoso e brilhante |

Ao longo do período de análise, estas características organoléticas foram sendo verificadas em cada momento (tempo 1 a 4), estando os resultados obtidos demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5: Avaliação dos caracteres organoléticos de formulações com extrato de *Artemisia campestris* (0,3%) e respetivo controlo (creme base O/A) referente aos 4 momentos de análise (tempos 1 a 4).

| Caracteres organoléticos | Formulações armazenadas ao abrigo da luz e temperatura ambiente | | Formulações armazenadas sujeita à luz e temperatura ambiente | | Formulações armazenadas em estufa (40°C) | |
|---------------------------------|--|-------------------------------|---|-------------------------------|---|------------------------------|
| | Formulação com extrato | Creme base O/A | Formulação com extrato | Creme base O/A | Formulação com extrato | Creme base O/A |
| Cor | Bege | Branco | Bege | Branco | Bege | Branco |
| Odor | Característico | Inodoro | Característico | Inodoro | Característico | Inodoro |
| Aspeto | Uniforme, levemente fluido e brilhante | Uniforme, cremoso e brilhante | Uniforme, levemente fluido e brilhante | Uniforme, cremoso e brilhante | Uniforme, fluido e brilhante | Uniforme, fluido e brilhante |

De acordo os resultados da Tabela 5, a análise das características organoléticas sobre as formulações não demonstrou alterações nos parâmetros de cor, que se manteve bege para emulsões contendo extrato e branca para emulsões de creme base, bem como no odor que, por sua vez, se manteve inodoro nas emulsões controlo e característico de extratos vegetais nas emulsões de teste. Contudo, foi possível verificar a diminuição da consistência dos cremes expostos a uma temperatura superior (40°C), o que era esperado uma vez que com o aumento da temperatura, a viscosidade diminui (Lage, 2018),

havendo assim uma alteração visível no aspeto das formulações armazenadas em estufa. Estes resultados foram verificados ao longo de todo o período de análise.

A viscosidade, por sua vez, diz respeito à medida da resistência de um fluido ao escoamento. A avaliação deste parâmetro ajuda a determinar se um produto apresenta a consistência ou fluidez apropriada, enquanto gera indicações acerca do comportamento do produto ao longo do tempo (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004). Assim, este é um fator importante a ter em consideração na textura e fluidez da emulsão (Mohsin & Akhtar, 2017). Aliás, a viscosidade não afeta apenas a espalhabilidade e sensação na pele, como também a penetrabilidade dos ativos incorporados na formulação (Binder *et al*, 2019).

Neste sentido, a viscosidade foi avaliada recorrendo a um viscosímetro portátil, estando os resultados obtidos expressos na Tabela 6.

Tabela 6: Viscosidade das formulações com extrato incorporado de *Artemisia campestris* (0,3%) e controlo (creme base O/A) ao longo do tempo.

| Viscosidade (mPas) | Formulações armazenadas expostas à luz e temperatura ambiente | | Formulações armazenadas ao abrigo da luz e temperatura ambiente | | Formulações armazenadas em estufa (40°C) | |
|--------------------|---|----------------|---|----------------|--|----------------|
| | Formulação com extrato | Creme base O/A | Formulação com extrato | Creme base O/A | Formulação com extrato | Creme base O/A |
| 14 dias | 20966,7 ± | 25300,0 ± | 21066,7 ± | 26633,3 ± | 13166,7 ± | 16166,7 ± |
| | 808,3 | 458,3 | 642,9 | 665,8 | 152,8** | 208,2** |
| 28 dias | 23766,7 ± | 25966,7 ± | 21700,0 ± | 27433,3 ± | 12400,0 ± | 12666,7 ± |
| | 642,9 | 288,7 | 300,0 | 750,5 | 264,6** | 152,8** |
| 42 dias | 23633,3 ± | 25966,7 ± | 22966,7 ± | 30900,0 ± | 14700,0 ± | 15400,0 ± |
| | 1026,3 | 665,8 | 208,2 | 264,6 | 200,0** | 360,6** |
| 56 dias | 26033,3 ± | 28733,3 ± | 26566,7 ± | 26366,7 ± | 12600,0 ± | 14100,0 ± |
| | 611,0 | 351,2 | 404,1 | 305,5 | 264,6** | 360,6** |

Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão a partir de 3 ensaios independentes.

** diferenças significativas das amostras face ao tempo 0 ($p < 0,05$)

No momento de análise inicial, verificou-se a viscosidade do creme base O/A (24266,67 ± 152,7 mPas) e do creme com extrato de *A. campestris* (23800 ± 264,6 mPas). Consoante é possível observar através dos resultados, a viscosidade da emulsão teste é inferior ao creme de base O/A em todas as condições e análises. Este é um resultado esperado uma vez que a incorporação do extrato vegetal de *A. campestris* foi feita através da adição de uma solução aquosa, o que adiciona fluidez à formulação.

Durante o período de análise, não se verificaram alterações significativas nos valores de viscosidade das formulações armazenadas expostas à luz e temperatura ambiente, tal como nas

formulações armazenadas ao abrigo da luz e temperatura ambiente. Contudo, demonstrou-se que a emulsão armazenada em estufa a uma temperatura de 40°C sofreu uma redução significativa da sua viscosidade em relação ao tempo 0 em todos os momentos de análise ($p < 0,05$), o que é também apoiado pela avaliação organolética, nomeadamente no que toca ao aspeto. Isto está relacionado com o facto de que um aumento da temperatura leva a uma maior velocidade microscópica e, por isso, um maior fluxo de partículas, com consequência da diminuição da viscosidade (Lage, 2018).

Relativamente à avaliação da estabilidade física das emulsões, esta foi analisada tendo por base o teste de centrifugação. Neste contexto, a centrifugação é um método acelerado que permite prever a estabilidade física de uma amostra uma vez que faz com que as partículas colidam rapidamente, antecipando possíveis instabilidades (Mohsin & Akhtar, 2017), que poderão ser visíveis sob a forma de precipitação, separação de fases, formação de *caking*, coalescência, entre outras (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004). De facto, a resistência à separação de fases em testes preliminares revela dados importantes quanto ao desenvolvimento de formulações estáveis (Mohsin & Akhtar, 2017). No seguimento desta avaliação, foi possível verificar que ao fim de dois ciclos de centrifugação, cada um de 10 minutos, a estabilidade física das emulsões contendo extrato e emulsões base O/A utilizadas como controlo, se mantinha. No final de cada teste, todas as formulações apresentavam um aspeto homogéneo, sem qualquer alteração visível. Assim, demonstra-se a ausência de alterações drásticas causadas pela destabilização que, por sua vez, poderiam resultar na separação de fases ou sedimentação.

Finalmente, o pH é um parâmetro a ter em conta uma vez que está relacionado com a estabilidade dos ingredientes da formulação, a sua eficácia e segurança (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004). Por outro lado, é ainda importante garantir a sua compatibilidade com a aplicação cutânea na medida em que a pele apresenta um pH ácido que deve ser mantido, importante na defesa antimicrobiana, bem como na integridade do estrato córneo e homeostase da barreira epidérmica (Fürtjes *et al*, 2018). Assim, o pH recomendado para produtos de aplicação cutânea deverá compreender-se entre 4,5 a 6 de modo a reduzir o potencial risco de irritações (Lucero *et al*, 1994). Neste sentido, as medições do pH das emulsões em análise estão expostas na Tabela 7.

Tabela 7: pH das formulações com extrato incorporado de *Artemisia campestris* (0,3%) e controlo (creme base O/A) ao longo do tempo.

| pH | Formulações armazenadas expostas à luz e temperatura ambiente | | Formulações armazenadas ao abrigo da luz e temperatura ambiente | | Formulações armazenadas em estufa (40°C) | |
|----------------|---|----------------|---|----------------|--|----------------|
| | Formulação com extrato | Creme base O/A | Formulação com extrato | Creme base O/A | Formulação com extrato | Creme base O/A |
| 14 dias | 6,68 ± 0,03 | 6,73 ± 0,04 | 6,51 ± 0,01 | 6,67 ± 0,02 | 6,05 ± 0,04** | 6,21 ± 0,02** |
| 28 dias | 6,75 ± 0,05 | 6,74 ± 0,01 | 6,62 ± 0,02 | 6,66 ± 0,04 | 6,57 ± 0,02 | 6,41 ± 0,14 |
| 42 dias | 6,66 ± 0,01 | 6,78 ± 0,01 | 6,63 ± 0,01 | 6,83 ± 0,04 | 6,53 ± 0,03 | 6,69 ± 0,04 |
| 56 dias | 6,65 ± 0,02 | 6,78 ± 0,01 | 6,64 ± 0,02 | 6,79 ± 0,02 | 6,50 ± 0,02 | 6,67 ± 0,01 |

Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão a partir de 3 ensaios independentes.

** diferenças significativas das amostras face ao tempo 0 ($p < 0,05$)

No momento de análise inicial, verificou-se o pH do creme base O/A ($6,72 \pm 0,04$) e do creme após incorporação do extrato de *A. campestris* ($6,58 \pm 0,01$).

Os resultados obtidos demonstram, genericamente, um valor de pH inferior (ainda que não significativo) na emulsão contendo o extrato em análise, em comparação ao creme base. Este facto poderá estar relacionado com a elevada composição do extrato em compostos fenólicos tal como verificado anteriormente, uma vez que os mais comuns presentes em tecidos vegetais correspondem a substâncias com teor ácido como os ácidos hidroxicinâmicos (ácido cafeico, ácido clorogénico, ácidos cumáricos, ácidos ferúlicos e ácidos sinápicos), ácidos hidroxibenzóicos (ácido gálico) e os taninos (Działo *et al.*, 2016). Assim sendo, será de esperar uma redução do pH aquando de um aumento da concentração do extrato incorporado na formulação.

Adicionalmente, foi ainda possível verificar que os valores de pH do tempo de análise 1 são significativamente diferentes dos obtidos no tempo 0 ($p < 0,05$) para as formulações armazenadas em estufa a 40°C, não tendo sido demonstradas quaisquer diferenças significativas nas restantes formulações em todos os momentos analisados. De acordo com os resultados obtidos, verificou-se uma diminuição do valor de pH durante os primeiros 14 dias de estudo nas formulações armazenadas em estufa, tendo depois esse valor aumentado e estabilizado durante o restante período em análise. A temperatura tem impacto no equilíbrio de dissociação da água na medida em que o aumento da temperatura aumenta também a atividade dos iões de hidrogénio, tornando-a mais ácida (Cunha *et al.*, 2010). Neste contexto e considerando tratar-se de uma emulsão O/A com um extrato aquoso incorporado, seria de esperar uma redução do pH aquando do aumento da temperatura, tal como se verificou. Contudo, uma vez que essa temperatura se manteve nos restantes momentos de análise, houve, em seguida, uma subida do pH no tempo 2 para valores próximos aos iniciais bem como das outras

variáveis em análise, resultando numa estabilização do valor de pH. Neste sentido e considerando a importância de manter a estabilidade do pH pela sua relação com a estabilidade dos ingredientes da formulação, bem como com a sua eficácia e segurança (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004), poderia recorrer-se a um agente corretor de pH como o acetato de sódio (Martins *et al.*, 2020) de modo a minimizar oscilações e garantir que esse valor se mantivesse numa gama de valores aproximada aos da superfície da pele.

Relativamente à compatibilidade cutânea da formulação, os valores obtidos estão compreendidos na escala de pH ácida, tal como normalmente definido para produtos de aplicação tópica na pele (Fürtjes *et al.*, 2018). Para além disso e considerando a redução de pH consequente da incorporação de extrato na formulação, a mesma beneficiaria em termos de pH de um aumento da concentração de extrato a utilizar.

No decorrer do presente trabalho foram sendo constatadas algumas limitações, nomeadamente no que concerne à quantidade de planta disponível que condicionou o volume de extrato e, consequentemente, o número de variáveis estudadas nos ensaios de estabilidade.

5. Conclusão

A extração de compostos de origem vegetal e sua aplicabilidade na indústria cosmética corresponde a uma oportunidade promissora, que requer uma investigação multidisciplinar.

Neste trabalho, foi possível identificar os grupos de compostos presentes em extratos de *A. campestris* (compostos fenólicos, polifenóis, flavonóides, taninos, diterpenóides, terpenóides e alcalóides), compostos estes com importância previamente reportada na atividade antioxidante. Para além disso, verificou-se que o extrato aquoso apresenta uma atividade antioxidante elevada com um valor de $IC_{50} = 28,05 \pm 1,51$ ($< 50 \mu\text{g/mL}$ através do ensaio DPPH), sendo este valor significativamente superior ao obtido no extrato hidroalcoólico, bem como um elevado teor de compostos fenólicos correspondente a $148,77 \pm 3,64 \text{ mg EAG/g}$ (superior a 20 mg EAG/g , utilizando o ensaio do reagente de Folin-Ciocalteu). No caso do ensaio da quelação de ferro, foi possível apenas obter resultados com o extrato aquoso, que por sua vez, apresentou uma atividade antioxidante baixa com um $IC_{50} = 922,29 \pm 37,83 \mu\text{g/mL}$. Por outro lado, foi ainda possível verificar que o extrato aquoso de *A. campestris* não apresenta potencial efeito tóxico para as células da pele, mais especificamente queratinócitos humanos (HaCat), na gama de concentrações testada ($5 \mu\text{g/mL}$ a $1000 \mu\text{g/mL}$).

No que toca à estabilidade de formulações de aplicação cutânea com extrato de *A. campestris* incorporado (0,3%), verificou-se a manutenção das características organolépticas no que toca à cor e odor. Contudo, os resultados demonstram um aspeto mais fluido nas formulações sujeitas a uma temperatura de armazenamento superior (estufa a 40°C), facto este apoiado pela redução da viscosidade nestas amostras. Quanto à estabilidade física da emulsão O/A com extrato incorporado, esta mantém-se e, assim, as formulações apresentam-se homogéneas e sem alterações visíveis, independentemente das condições de armazenamento, durante todo o período em que decorreu o ensaio. Finalmente, as emulsões contendo extrato apresentam um valor de pH inferior, comparativamente ao creme de base (controlo), o que era esperado considerando o teor ácido dos compostos presentes no extrato. Além disso, verificou-se uma diminuição do valor de pH durante os primeiros 14 dias de estudo nas formulações armazenada em estufa ($p < 0,05$), ou seja, um aumento da acidez aquando do aumento da temperatura, tal como era esperado. Estes resultados demonstram a manutenção das características e da estabilidade das formulações armazenadas à temperatura ambiente, ao abrigo ou na presença da luz. Já no caso das formulações armazenadas a temperatura superior, as alterações físicas em termos de viscosidade e de pH são expectáveis considerando as condições em estudo. Contudo, a necessidade de manter estável o pH é evidente, o que seria possível recorrendo à tamponação das formulações utilizando, por exemplo, o acetato de sódio.

Este estudo suporta a capacidade antioxidante da planta já anteriormente reportada, enquanto os resultados obtidos apontam também para as vantagens da incorporação dos extratos de *A. campestris* em cosméticos, face a essa mesma atividade biológica.

Contudo, futuras investigações são necessárias para avaliar a segurança de formulações cosméticas contendo o extrato aquoso em diferentes concentrações, tanto em queratinócitos como noutras linhagens celulares, como fibroblastos para aferir o comportamento do extrato de *A. campestris* em diferentes camadas cutâneas. Para além disso, seria importante realizar-se ensaios de permeabilização (*ex vivo*) que nos permitem explorar a absorção cutânea, bem como a caracterização dos compostos por exemplo, através de cromatografia líquida de elevada eficiência (HPLC). Este procedimento torna-se importante para confirmar os resultados preliminares qualitativos obtidos com o *screening* fitoquímico através da comparação do tempo de retenção dos compostos do extrato com o de padrões puros, assim como pelo facto de permitir quantificar os compostos presentes (Al Jahid *et al.*, 2016). Por outro lado, seria também relevante explorar no futuro a influência de outras variáveis a ter em conta na avaliação da estabilidade, como o tempo e número de medições através do aumento do período em análise, bem como o tipo de recipientes de acondicionamento final, nomeadamente a compatibilidade das formulações com materiais metálicos ou plásticos.

Em suma, as plantas apresentam-se como uma fonte importante de compostos com atividade biológica e, por isso, com grande aplicabilidade em diversas áreas como a saúde ou cosmética. De facto, esta planta surge como uma fonte de compostos bioativos com potencial cosmético, o que representa uma oportunidade a explorar através da realização de novos estudos *in vitro* e *in vivo*. Assim, este estudo surge como pioneiro no que toca à avaliação da possível incorporação em produtos de aplicação tópica de extratos de *A. campestris*, enquanto alarga o conhecimento sobre a planta.

6. Referências Bibliográficas

- Adjimani, J. P., & Asare, P. (2015). Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. *Toxicology Reports*, 2, 721–728. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.04.005>
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2004). *Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos* (1ª edição, Vol. 1).
- Al Jahid, A., Essabaq, S., Elamrani, A., Blaghen, M., & Jamal Eddine, J. (2016). Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil and the Hydro-alcoholic Extract of *Artemisia campestris* L. Leaves from Southeastern Morocco. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 6(5–6), 393–405. <https://doi.org/10.1080/22311866.2016.1268068>
- Alves, R. C., Costa, A. S. G., Jerez, M., Casal, S., Sineiro, J., Núñez, M. J., & Oliveira, B. (2010). Antiradical activity, phenolics profile, and hydroxymethylfurfural in espresso coffee: Influence of technological factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(23), 12221–12229. <https://doi.org/10.1021/jf1031229>
- An, Y. A., Hwang, J. Y., Lee, J. S., & Kim, Y. C. (2015). *Cornus officinalis* methanol extract upregulates melanogenesis in melan-a cells. *Toxicological Research*, 31(2), 165–172. <https://doi.org/10.5487/TR.2015.31.2.165>
- Aziz, M. A. (2015). Qualitative phytochemical screening and evaluation of anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of *Microcos paniculata* barks and fruits. *Journal of Integrative Medicine*, 13(3), 173–184. [https://doi.org/10.1016/S2095-4964\(15\)60179-0](https://doi.org/10.1016/S2095-4964(15)60179-0)
- Baek, J., & Lee, M. G. (2016). Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology. *Redox Report*, 21(4), 164–169. <https://doi.org/10.1179/1351000215Y.0000000015>
- Bakchiche, B., Gherib, A., Bronze, M. R., & Ghareeb, M. A. (2019). Identification, quantification, and antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *artemisia campestris* from Algeria. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 234–239. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2018.99267>
- Baumann, L. (2010). Cosmetic Dermatology. In *Dermatologic Surgery* (Second Edi, Vol. 36, Issue 2). <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2009.01393.x>
- Binder, L., Mazál, J., Petz, R., Klang, V., & Valenta, C. (2019). The role of viscosity on skin penetration from cellulose ether-based hydrogels. *Skin Research and Technology*, 25(5), 725–734. <https://doi.org/10.1111/srt.12709>
- Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., & Miguel, M. G. (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46, 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.01.020>
- Brohem, C. A., Da Silva Cardeal, L. B., Tiago, M., Soengas, M. S., De Moraes Barros, S. B., & Maria-Engler, S. S. (2011). Artificial skin in perspective: Concepts and applications. *Pigment Cell and Melanoma Research*, 24(1), 35–50. <https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2010.00786.x>

- Bylka, W., Znajdek-Awizeń, P., Studzińska-Sroka, E., Dańczak-Pazdrowska, A., & Brzezińska, M. (2014). Centella asiatica in dermatology: An overview. *Phytotherapy Research*, 28(8), 1117–1124. <https://doi.org/10.1002/ptr.5110>
- Carapeto, A., Araújo, P. V., Clamote, F., Portela-Pereira, E., Holyoak, D. T., Lourenço, A., Porto, M., & Almeida, J. D. (2022). *Artemisia campestris* L. – mapa de distribuição. Flora-On: Flora de Portugal Interativa, Sociedade Portuguesa de Botânica. <http://www.flora-on.pt/#wArtemisia+campestris>
- Cavinato, M., Waltenberger, B., Baraldo, G., Grade, C. V. C., Stuppner, H., & Jansen-Dürr, P. (2017). Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging. *Biogerontology*, 18(4), 499–516. <https://doi.org/10.1007/s10522-017-9715-7>
- Cosmetics Europe. (2004). *Guidelines on Stability Testing of Cosmetic Products*. March, 1–8.
- Cunha, J. P. A. R., Alves, G. S., & Reis, E. F. (2010). Temperature effect on the physical-chemical characteristics of aqueous solutions with spray adjuvants. *Planta Daninha*, 28(3), 665–672. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582010000300024>
- Dib, I., Angenot, L., Mihamou, A., Ziyat, A., & Tits, M. (2017). *Artemisia campestris* L.: Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review. *Journal of Herbal Medicine*, 7, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2016.10.005>
- Dib, I., & El Alaoui-Faris, F. E. (2019). *Artemisia campestris* L.: review on taxonomical aspects, cytogeography, biological activities and bioactive compounds. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 109, 1884–1906. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.149>
- Działo, M., Mierziak, J., Korzun, U., Preisner, M., Szopa, J., & Kulma, A. (2016). The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2), 1–41. <https://doi.org/10.3390/ijms17020160>
- European Medicines Agency. (2003). *Stability Testing of new Drug Substances and Products*. August, 1–20. <https://doi.org/10.32388/yokp53>
- Fürtjes, T., Weiss, K. T., Filbry, A., Rippke, F., & Schreml, S. (2018). Impact of a pH 5 Oil-in-Water Emulsion on Skin Surface pH. *Skin Pharmacology and Physiology*, 30(6), 292–297. <https://doi.org/10.1159/000480300>
- Gaschler, M. M., & Stockwell, B. R. (2017). Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482(3), 419–425. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1370–1373. <https://doi.org/10.1021/jf048396b>
- Ghlissi, Z., Sayari, N., Kallel, R., Bougatef, A., & Sahnoun, Z. (2016). Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat.

- Biomedicine and Pharmacotherapy*, 84, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.018>
- Gul, R., Jan, S. U., Faridullah, S., Sherani, S., & Jahan, N. (2017). Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Analysis of Alkaloids, and Antioxidant Activity of Crude Plant Extracts from *Ephedra intermedia* Indigenous to Balochistan. *Scientific World Journal*, 2017(Figure 1). <https://doi.org/10.1155/2017/5873648>
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. In *Archives of Toxicology* (Vol. 94, Issue 3). <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2022). Metal Ions, Metal Chelators and Metal Chelating Assay as Antioxidant Method. *Processes*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/pr10010132>
- Hammiche, V., & Maiza, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*, 105(3), 358–367. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.11.028>
- Jiang, R., Xu, X. H., Wang, K., Yang, X. Z., Bi, Y. F., Yan, Y., Liu, J. Z., Chen, X. N., Wang, Z. Z., Guo, X. L., Zhao, D. Q., & Sun, L. W. (2017). Ethyl acetate extract from *Panax ginseng* C.A. Meyer and its main constituents inhibit α -melanocyte-stimulating hormone-induced melanogenesis by suppressing oxidative stress in B16 mouse melanoma cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 208, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.07.004>
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954–3962. <https://doi.org/10.1021/jf990146l>
- Karabegović, I., Nikolova, M., Veličković, D., Stojičević, S., Veljković, V., & Lazić, M. (2011). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *artemisia* sp. recovered by different extraction techniques. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 19(3), 504–511. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(11\)60013-X](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(11)60013-X)
- Khavkin, J., & Ellis, D. A. F. (2011). Aging Skin: Histology, Physiology, and Pathology. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, 19(2), 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.fsc.2011.04.003>
- Kuete, V., & Efferth, T. (2010). *Cameroonian medicinal plants : pharmacology and derived natural products*. 1(October), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fphar.2010.00123>
- Lage, E. (2018). Viscosidade. *Revista de Ciência Elementar*, 6(4), 1–3. <https://doi.org/10.24927/rce2018.085>
- Li, Y., Huang, J., Lu, J., Ding, Y., Jiang, L., Hu, S., Chen, J., & Zeng, Q. (2019). The role and mechanism of Asian medicinal plants in treating skin pigmentary disorders. *Journal of Ethnopharmacology*, 245, 112173. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112173>
- Lima, C. F., Fernandes-ferreira, M., & Pereira-wilson, C. (2006). *Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: Relevance of glutathione levels*. 79, 2056–2068. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.06.042>

- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Lucero, M. J., Vigo, J., & León, M. J. (1994). A study of shear and compression deformations on hydrophilic gels of tretinoin. *International Journal of Pharmaceutics*, 106(2), 125–133. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(94\)90310-7](https://doi.org/10.1016/0378-5173(94)90310-7)
- Maione, F., Russo, R., Khan, H., & Mascolo, N. (2016). Medicinal plants with anti-inflammatory activities. *Natural Product Research*, 30(12), 1343–1352. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1062761>
- Maleš, Ž., Drvar, D. L., Duka, I., & Žužul, K. (2019). Application of medicinal plants in several dermatovenerological entities. *Acta Pharm.* <https://doi.org/10.2478/acph-2019-0045>
- Markiewicz, E., & Idowu, O. C. (2019). DNA damage in human skin and the capacities of natural compounds to modulate the bystander signalling. *Open Biology*, 9(12). <https://doi.org/10.1098/rsob.190208>
- Mechaala, S., Bouatrous, Y., & Adouane, S. (2021). Traditional knowledge and diversity of wild medicinal plants in El Kantara's area (Algerian Sahara gate): An ethnobotany survey. *Acta Ecologica Sinica*, xxxx. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2021.01.007>
- Mohsin, S., & Akhtar, N. (2017). Formulation and stability evaluation of Bauhinia variegata extract topical emulsion. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 74(3), 945–954.
- Mosmann, T. (1983). Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Methods*, 55–63. <https://doi.org/10.1039/c6ra17788c>
- Nakajima, H., Fukazawa, K., Wakabayashi, Y., Wakamatsu, K., & Imokawa, G. (2012). Withania somnifera extract attenuates stem cell factor-stimulated pigmentation in human epidermal equivalents through interruption of ERK phosphorylation within melanocytes. *Journal of Natural Medicines*, 66(3), 435–446. <https://doi.org/10.1007/s11418-011-0604-0>
- Naylor, E. C., Watson, R. E. B., & Sherratt, M. J. (2011). Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas*, 69(3), 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2011.04.011>
- Oliveira, A. I., Pinho, C., Fonte, P., Sarmiento, B., & Dias, A. C. P. (2018). Development, characterization, antioxidant and hepatoprotective properties of poly(ε-caprolactone) nanoparticles loaded with a neuroprotective fraction of Hypericum perforatum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 110, 185–196. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.103>
- Ouelbani, R., Bensari, S., Mouas, T. N., & Khelifi, D. (2016). Ethnobotanical investigations on plants used in folk medicine in the regions of Constantine and Mila (North-East of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*, 194, 196–218. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.08.016>
- Pai, V. V., Shukla, P., & Kikkeri, N. N. (2014). *Antioxidants in dermatology*. 5(2), 210–214. <https://doi.org/10.4103/2229-5178.131127>

- Pazyar, N., Yaghoobi, R., Rafiee, E., Mehrabian, A., & Feily, A. (2014). Skin wound healing and phytomedicine: A review. *Skin Pharmacology and Physiology*, 27(6), 303–310. <https://doi.org/10.1159/000357477>
- Pereira, C. G., Barreira, L., Bijttebier, S., Pieters, L., Marques, C., Santos, T. F., Rodrigues, M. J., Varela, J., & Custódio, L. (2018). Health promoting potential of herbal teas and tinctures from *Artemisia campestris* subsp. *maritima*: From traditional remedies to prospective products. *Scientific Reports*, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23038-6>
- Pérez-Sánchez, A., Barrajón-Catalán, E., Herranz-López, M., & Micol, V. (2018). Nutraceuticals for skin care: A comprehensive review of human clinical studies. *Nutrients*, 10(4), 1–22. <https://doi.org/10.3390/nu10040403>
- Petruk, G., Giudice, R. Del, Rigano, M. M., & Monti, D. M. (2018). Antioxidants from plants protect against skin photoaging. In *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2018). <https://doi.org/10.1155/2018/1454936>
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health Lien. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96. <https://doi.org/10.17094/ataunivbd.483253>
- Prajapati, V. D., Maheriya, P. M., Jani, G. K., & Solanki, H. K. (2014). Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 105, Issue 1). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.067>
- Rocha, M. I., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Pereira, C., Moreira, P., Salgueiro, L., & Figueirinha, A. (2021). Chemical characterization and bioactive potential of *Artemisia campestris* L. subsp. *maritima* (DC) Arcang. essential oil and hydrodistillation residual water. *Journal of Ethnopharmacology*, 276(April). <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114146>
- Rodrigues, F., Moreira, T., Pinto, D., Pimentel, F. B., Costa, A. S. G., Nunes, M. A., Gonçalves Albuquerque, T., S. Costaa, H., Palmeira-de-Oliveira, A., Oliveira, A. I., Sut, S., Dall'Acqua, S., & Oliveira, M. B. P. P. (2018). The phytochemical and bioactivity profiles of wild *Calluna vulgaris* L. flowers. *Food Research International*, 111(June), 724–731. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.012>
- Rodrigues, I. M. C., Souza Filho, A. P. S., & Ferreira, F. A. (2009). Estudo fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. *Planta Daninha*, 27(3), 507–513. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582009000300011>
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Latha, L. Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 8, 93–130. https://doi.org/10.1007/978-3-642-56936-4_2
- Sassi, A. Ben, Harzallah-Skhiri, F., & Aouni, M. (2007). Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharmaceutical Biology*, 45(5), 421–428.


<https://doi.org/10.1080/13880200701215406>

- Sefi, M., Fetoui, H., Makni, M., & Zeghal, N. (2010). Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(7), 1986–1993. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.005>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. In *Journal of Functional Foods* (Vol. 18, pp. 757–781). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Shemluck, M. (1982). Medicinal and other uses of the Compositae by Indians in the United States and Canada. *Journal of Ethnopharmacology*, 5(3), 303–358. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(82\)90016-2](https://doi.org/10.1016/0378-8741(82)90016-2)
- Silva, B. A., Ferreres, F., Malva, J. O., & Dias, A. C. P. (2005). Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chemistry*, 90(1–2), 157–167. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.049>
- Stefanovic, O. D., & Te, J. D. (2015). *Melilotus albus* and *Dorycnium herbaceum* extracts as source of phenolic compounds and their antimicrobial, antibiofilm, and antioxidant potentials. February, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.003>
- Tamokou, J. de D., Mbaveng, A. T., & Kuete, V. (2017). Antimicrobial Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. In *Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00008-X>
- Tan, R. X., Zheng, W. F., & Tang, H. Q. (1998). Biologically Active Substances from the Genus *Artemisia*. *Planta Medica*, 64, 295–302. <https://doi.org/10.1076/phbi.40.1.45.5864>
- Tchabo, W., Ma, Y., Kwaw, E., Xiao, L., Wu, M., & Apaliya, M. T. (2018). Impact of extraction parameters and their optimization on the nutraceuticals and antioxidant properties of aqueous extract mulberry leaf. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 717–732. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1446025>
- Tiwari, P., Kaur, M., & Kaur, H. (2011). *Phytochemical screening and Extraction: A Review*.
- Tomei, R. R., & Salvador, M. J. (2007). Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. *XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação*, 1963–1967.
- Uyama, M., Ikuta, K., Teshigawara, T., Watanabe, K., & Miyahara, R. (2013). The viscosity stability of O/W emulsion containing α -gel through an ionic-complex system. *Journal of Oleo Science*, 62(1), 9–16. <https://doi.org/10.5650/jos.62.9>
- Voegeli, D. (2012). Understanding the main principles of skin care in older adults. *Nursing Standard (Royal College of Nursing (Great Britain) : 1987)*, 27(11). <https://doi.org/10.7748/ns2012.11.27.11.59.c9414>

- Wong, R., Geyer, S., Weninger, W., Guimberteau, J. C., & Wong, J. K. (2016). The dynamic anatomy and patterning of skin. *Experimental Dermatology*, *25*(2), 92–98. <https://doi.org/10.1111/exd.12832>
- Xu, P., Su, S., Tan, C., Lai, R. S., & Min, Z. S. (2017). Effects of aqueous extracts of *Ecliptae herba*, *Polygoni multiflori radix praeparata* and *Rehmanniae radix praeparata* on melanogenesis and the migration of human melanocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, *195*(October 2015), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.11.045>
- Zhao, Q., Zhao, Y., & Wang, K. (2006). Antinociceptive and free radical scavenging activities of alkaloids isolated from *Lindera angustifolia* Chen. *Journal of Ethnopharmacology*, *106*(3), 408–413. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.01.019>
- Zubairi, S. I., Sarmidi, M. R., & Aziz, R. A. (2014). The Effects of Raw Material Particles Size, Types of Solvents and Solvent-to-Solid Ratio on the Yield of Rotenone Extracted from *Derris elliptica* Roots. *Sains Malaysiana*, *43*(5), 707–713.

7. Anexos

1. Ficha técnica do creme base O/A Guinama®.

| | | |
|---|--|--|
|  | Laboratorio distribuidor de materias primas para los sectores de la farmacia y la cosmética. | |
| | FICHA TÉCNICA | www.guinama.com Telf: 96 186 90 90 tecnica@guinama.com |
| | Fecha de revisión: 23.11.2020 | Versión: 9.0 |
| | | |

CREMA GUINAMA OW

Base para Formulación Magistral

| 1. Información General | <p>La Crema Guinama OW es una crema de tipo aniónico, sin lauril sulfato sodico, de color blanco brillante, alta evanescencia y extensibilidad. Contiene aceite de almendras dulces, lo que proporciona a la crema un efecto nutritivo sobre las pieles secas. Admite fácilmente extractos glicólicos, aceites y otros activos, que incorpora sin necesidad de humectar previamente. Preparada para usar directamente sin necesidad de fundir o diluir.</p> | | | | | | | |
|--|---|-----------------------------------|---|--------------|----------------|----|----------------------------|--|
| 2. Características generales | Características físicas | Crema blanca brillante | | | | | | |
| | Signo de la emulsión | OW | | | | | | |
| | Rango de pH | De 3,5 a 9 | | | | | | |
| | Densidad | 0,9 – 1,2 g/ml | | | | | | |
| | Capacidad de penetración | Media | | | | | | |
| | Compatibilidad API | Hidrofilicos 20%- Lipofilicos 20% | | | | | | |
| 3. Código INCI | <p>INCI: WATER, MYRISTYL MYRISTATE, CETYL ALCOHOL, GLYCERIL STEARATE, ISOPROPYL MYRISTATE, CETYL PHOSPHATE, CETEARETH-20, GLYCERIN, CETEARYL ETHYLHEXANOATE, DIMETHICONE, PRUNUS DULCIS OIL, TRIETANOLAMINE, PHENOXYETHANOL, CARBOMER, TOCOPHEROL ACETATE, MAGNESII SULFAS, ETHYLHEXYLGLYCERIN, B.H.T, POLYETHYLENE GLYCOL, SORBITAN TRISTEARATE, SILICA, EDTA, BENZOIC ACID, SORBIC ACID, SULFURIC ACID.</p> | | | | | | | |
| 4. Propiedades | <ul style="list-style-type: none"> Crema nutritiva apta para pieles normales y secas/muy secas Libre de sulfatos Sin parabenes Sin vaselinas Sensación no grasa y de fácil absorción, y extensibilidad Alta estabilidad con activos aniónicos como la hidroquinona, el acido salicilico, fotoprotectores, etc.. | | | | | | | |
| 5. Aplicaciones más frecuentes | <ul style="list-style-type: none"> Dermatología Dermocosmética | | | | | | | |
| 6. Principios activos vehiculizados frecuentemente | <table border="1"> <thead> <tr> <th>PRINCIPIO ACTIVO</th> <th>%</th> <th>Indicaciones</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Hidrocortisona</td> <td>1%</td> <td>Acné, rosácea y dermatitis</td> </tr> </tbody> </table> | PRINCIPIO ACTIVO | % | Indicaciones | Hidrocortisona | 1% | Acné, rosácea y dermatitis | |
| PRINCIPIO ACTIVO | % | Indicaciones | | | | | | |
| Hidrocortisona | 1% | Acné, rosácea y dermatitis | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|--|---|---------|---------------|----------------|--------|---|------|-----|----------------------------|--------------|------|----------------|------------|-----------|---|
| | <table border="1"> <tr> <td>Ac. salicílico</td> <td>0,5-10%</td> <td>Queratolítico</td> </tr> <tr> <td>Amonio lactato</td> <td>6- 12%</td> <td>Ictiosis, psoriasis, envejecimiento cutáneo</td> </tr> <tr> <td>Urea</td> <td>10%</td> <td>Queratolítico e hidratante</td> </tr> <tr> <td>Hidroquinona</td> <td>2-5%</td> <td>Despigmentante</td> </tr> <tr> <td>Tretinoína</td> <td>0,01-0,1%</td> <td>Antiacneico, queratolítico y antiinflamatorio</td> </tr> </table> | Ac. salicílico | 0,5-10% | Queratolítico | Amonio lactato | 6- 12% | Ictiosis, psoriasis, envejecimiento cutáneo | Urea | 10% | Queratolítico e hidratante | Hidroquinona | 2-5% | Despigmentante | Tretinoína | 0,01-0,1% | Antiacneico, queratolítico y antiinflamatorio |
| Ac. salicílico | 0,5-10% | Queratolítico | | | | | | | | | | | | | | |
| Amonio lactato | 6- 12% | Ictiosis, psoriasis, envejecimiento cutáneo | | | | | | | | | | | | | | |
| Urea | 10% | Queratolítico e hidratante | | | | | | | | | | | | | | |
| Hidroquinona | 2-5% | Despigmentante | | | | | | | | | | | | | | |
| Tretinoína | 0,01-0,1% | Antiacneico, queratolítico y antiinflamatorio | | | | | | | | | | | | | | |
| 7. Fórmulas tipo | <p>Tratamiento del melasma Hidroquinona 5% Acido ascórbico 5% Metabisulfito sódico 0,1% Crema GUINAMA OW csp Dispersar el acido ascórbico y el metabisulfito sódico sobre la crema, y homogeneizar hasta que los incorpore. Pulverizar la hidroquinona en un mortero e incorporar a la crema. El pH rondará el 3,5, NO MODIFICAR. La hidroquinona es más estable a ese pH.</p> <p>Crema de Retinoico, triamcinolona y Aloe Vera Acido retinoico 0,025% Triamcinolona acetónido 0,1% Aloe Vera gel 5% Propilenglicol 5% Crema GUINAMA OW csp Pulverizar el acido retinoico en caso de que sea necesario, y formar una pasta con la triamcinolona y el propilenglicol. Incorporar a la crema Guinama OW y homogeneizar. Añadir el aloe vera gel , y homogeneizar de nuevo. Aplicar sobre la piel usando la técnica de capa fina</p> | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8. Modus operandi general. | <ol style="list-style-type: none"> 1. Pesar y medir los activos. 2. Pulverizar en un mortero aquéllos activos insolubles e interponerlos en propilenglicol. 3. Disolver en agua o excipiente apropiado los activos solubles. 4. Mezclar con la crema las preparaciones anteriores, homogeneizando en el mortero o bien con la ayuda de un samix. 5. Añadir al final los activos líquidos y volver a homogeneizar. | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9. Envases recomendados: | Envase SAMIX, tubo aluminio, tarro con tapa de rosca, tubo plástico, según viscosidad final puede envasarse en tarro tipo airless con bomba | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10. Toxicidad o precauciones de uso | Uso tópico externo. No toxico ni irritante. No usar sobre heridas ni mucosas. No ingerir. | | | | | | | | | | | | | | | |
| 11. Conservación | Almacenar en lugar fresco y seco y en envase bien cerrado. No congelar. NUNCA REBASAR LOS 35°C | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12. Incompatibilidades | Incompatible con activos muy ácidos, altas concentraciones de etanol. | | | | | | | | | | | | | | | |

| | |
|------------------------------|--|
| 13. Estudios y Publicaciones | <ul style="list-style-type: none">▪ Formulación magistral de medicamentos. COF Vizcaya 2005.▪ Formulario Nacional- 1ª ed. Rev 2007▪ Formulario Básico de medicamentos magistrales. Mª Jose Llopis y Vicent Baixauli. 2001. |
| 14. Códigos | <ul style="list-style-type: none">▪ Código del producto: 2924 |

2. Ficha de dados de segurança do creme base O/A Guinama®.

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA

(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)

2924-CREME BASE O/W GUINAMA

Versão: 3

Data de revisão: 03/10/2018



Página 1 de 11

Data de impressão: 03-10-2018

SECÇÃO 1: IDENTIFICAÇÃO DA MISTURA E DA SOCIEDADE/EMPRESA.

1.1 Identificador do produto.

Nome do produto: CREME BASE O/W GUINAMA
Código do produto: 2924

1.2 Utilizações identificadas relevantes da mistura e utilizações desaconselhadas.

Cosmético
Matérias-primas para cosméticos
Matéria-prima para produtos farmacêuticos.

Usos não aconselhados:

Usos diferentes aos aconselhados.

1.3 Identificação do fornecedor da ficha de dados de segurança.

Empresa: **GUINAMA**
Endereço: C/ Praga, s/n. P.I. Gutenberg
População: 46185 La Pobla de Vallbona
Distrito: Valencia
Telefone: +34961869090 / 902119816
Fax: +34961850352
E-mail: ventas@guinama.com
Web: www.guinama.com

1.4 Número de telefone de emergência: +34961869090 / 902119816 (Só disponível em horário de escritório; segunda-feira-sexta-feira; 08:00-18:00)

SECÇÃO 2: IDENTIFICAÇÃO DOS PERIGOS.

2.1 Classificação da mistura.

O produto não é classificado como perigoso segundo o Regulamento (EU) No 1272/2008.

2.2 Elementos do rótulo.

Este producto no esta clasificado como peligroso según el Reglamento CE 1272/2008.

Frases P:
P280 Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial.
P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.
P310 Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico/...

Contém:

Álcools, C16-18, etoxilados

2.3 Outros perigos.

Em condições de uso normal e na sua forma original, o produto não tem efeitos negativos sobre a saúde e o meio ambiente.

SECÇÃO 3: COMPOSIÇÃO/INFORMAÇÃO SOBRE OS COMPONENTES.

3.1 Substâncias.

Não Aplicável.

3.2 Misturas.

Substâncias que representam um perigo para a saúde ou o meio ambiente de acordo com a Regulamento (CE) No. 1272/2008, têm atribuído um limite de exposição comunitário no lugar de trabalho, estão classificadas como PBT/ mPmB ou incluídas na Lista de Candidatos:

| Identificadores | Nome | Concentração | (*)Classificação -Regulamento 1272/2008 |
|-----------------|------|--------------|---|
|-----------------|------|--------------|---|

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA
(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)
2924-CREME BASE O/W GUINAMA



Versão: 3
Data de revisão: 03/10/2018

Página 2 de 11
Data de impressão: 03-10-2018

| | | | Classificação | Limites de concentração específicos |
|---|----------------------------------|--------------|---|---|
| N. CAS: 56-81-5 N. CE: 200-289-5 N. registo: 01-2119471987-18-XXXX | [1] glycerol | 5 - 10 % | - | - |
| N. CAS: 68439-49-6 N. CE: 500-212-8 | Álcoois, C16-18, etoxilados | 3 - 10 % | Acute Tox. 4, H302 - Eye Dam. 1, H318 | - |
| N. CAS: 102-71-6 N. CE: 203-049-8 N. registo: 01-2119486482-31-XXXX | [1] 2,2', 2'' - nitrilotrietanol | 2 - 10 % | Eye Irrit. 2, H319 | - |
| N. CAS: 128-37-0 N. CE: 204-881-4 N. registo: 01-2119565113-46-XXXX | [1] 2,6-di-terc-butil-p-cresol | 0.1 - 0.25 % | Aquatic Chronic 1, H410 (M=1) | - |
| N. Índice: 016-020-00-8 N. CAS: 7664-93-9 N. CE: 231-639-5 N. registo: 01-2119458838-20-XXXX | [1] ácido sulfúrico em solução | 1 - 5 % | Skin Corr. 1A, H314 | Skin Corr. 1A, H314: C ≥ 15 % Skin Irrit. 2, H315: 5 % ≤ C < 15 % Eye Irrit. 2, H319: 5 % ≤ C < 15 % |

(*) O texto completo das frases H é pormenorizado no apartado 16 desta Ficha de Segurança.

[1] Substância à qual se aplica limite de exposição comunitário no local de trabalho (ver secção 8.1).

SECÇÃO 4: MEDIDAS DE PRIMEIROS SOCORROS.

4.1 Descrição das medidas de primeiros socorros.

Nos casos de dúvida, ou quando persistirem os sintomas de mal-estar, solicitar atenção médica. Não administrar nunca nada por via oral a pessoas que se encontrem inconscientes.

Inalação.

Situar o acidentado ao ar livre, mantê-lo quente e em repouso, se a respiração for irregular ou se detiver, praticar respiração artificial.

Contacto com os olhos.

Lavar abundantemente os olhos com água limpa e fresca durante, pelo menos, 10 minutos, puxando para cima das pálpebras e procurar assistência médica. Não permita que a pessoa se esfregue o olho afetado.

Contacto com a pele.

Tirar a roupa contaminada. Lavar a pele vigorosamente com água e sabão ou um limpador de pele adequado. NUNCA utilizar dissolventes ou diluentes.

Ingestão.

Se acidentalmente foi ingerido, procurar imediatamente atenção médica. Mantê-lo em repouso. NUNCA provocar o vômito.

4.2 Sintomas e efeitos mais importantes, tanto agudos como retardados.

Produto Corrosivo: o contacto com os olhos ou com a pele pode provocar queimaduras, a ingestão ou inalação podem provocar danos internos; caso tal aconteça, será necessária assistência médica imediata.

O contato com os olhos pode produzir danos irreversíveis.

4.3 Indicações sobre cuidados médicos urgentes e tratamentos especiais necessários.

Solicite ajuda médica de imediato. Não administrar nunca nada por via oral a pessoas que se encontrem inconscientes. Não induzir o vômito. Se a pessoa vomitar, isole as vias respiratórias. Cubra a zona afetada com um compressa estéril seca. Proteja a zona afetada de pressão ou fricção.

SECÇÃO 5: MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIOS.

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA

(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)

2924-CREME BASE O/W GUINAMA



Versão: 3
Data de revisão: 03/10/2018

Página 3 de 11
Data de impressão: 03-10-2018

O produto não apresenta qualquer risco específico em caso de incêndio.

5.1 Meios de extinção.

Meios de extinção adequados:

Pó extintor ou CO2. Em caso de incêndios mais graves também espuma resistente ao álcool e água pulverizada.

Meios de extinção inadequados:

Não usar para a extinção jato direto de água. Em presença de tensão elétrica não é aceitável utilizar água ou espuma como meio de extinção.

5.2 Perigos especiais decorrentes da mistura.

Riscos especiais.

O fogo pode produzir um espesso fumo negro. Como consequência da decomposição térmica, podem formar-se produtos perigosos: monóxido de carbono, dióxido de carbono. A exposição aos produtos de combustão ou decomposição pode ser prejudicial para a saúde.

5.3 Recomendações para o pessoal de combate a incêndios.

Refrigerar com água os tanques, cisternas ou recipientes próximos à fonte de calor ou fogo. Ter em conta a direção do vento. Evitar que os produtos utilizados na luta contra incêndio passem a esgotos, sumidouros ou cursos de água.

Equipamento de proteção contra incêndios.

Segundo a magnitude do incêndio, pode ser necessário o uso de roupas de proteção contra o calor, equipamento respiratório autónomo, luvas, óculos protetores ou máscaras faciais e botas.

SECÇÃO 6: MEDIDAS A TOMAR EM CASO DE FUGAS ACIDENTAIS.

6.1 Precauções individuais, equipamento de proteção e procedimentos de emergência.

Para controlo de exposição e medidas de proteção individual, ver seção 8.

6.2 Precauções a nível ambiental.

Produto não classificado como perigoso para o meio ambiente; na medida do possível, evite qualquer derrame.

6.3 Métodos e materiais de confinamento e limpeza.

A zona contaminada deve ser limpa imediatamente com um descontaminante adequado. Deitar o descontaminante aos restos e deixá-lo durante vários dias até que não se produza reação, num recipiente sem fechar.

6.4 Remissão para outras secções.

Para controlo de exposição e medidas de proteção individual, ver seção 8.
Para a posterior eliminação dos resíduos, seguir as recomendações da seção 13.

SECÇÃO 7: MANUSEAMENTO E ARMAZENAGEM.

7.1 Precauções para um manuseamento seguro.

O produto não exige medidas de manuseamento especiais; recomendam-se as seguintes medidas gerais:
Para a proteção pessoal, ver seção 8. Não utilizar nunca pressão para esvaziar os recipientes, não são recipientes resistentes à pressão.

Na zona de aplicação deve ser proibido fumar, comer e beber.

Cumprir com a legislação sobre segurança e higiene no trabalho.

Conservar o produto em recipientes de um material idêntico ao original.

7.2 Condições de armazenagem segura, incluindo eventuais incompatibilidades.

O produto não exige medidas especiais de armazenamento.
Como condições gerais de armazenamento, devem-se evitar fontes de calor, radiações, eletricidade e o contacto com alimentos.

Manter longe de agentes oxidantes e de materiais fortemente ácidos ou alcalinos.

Armazenar os recipientes entre 5 e 35° C, num local seco e bem ventilado.

Armazenar segundo a legislação local. Observar as indicações da etiqueta.

O produto não está afetado pela Directiva 2012/18/UE (SEVESO III).

7.3 Utilizações finais específicas.

Não disponível.

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA

(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)

2924-CREME BASE O/W GUINAMA

Versão: 3

Data de revisão: 03/10/2018



Página 4 de 11

Data de impressão: 03-10-2018

SECÇÃO 8: CONTROLO DA EXPOSIÇÃO/PROTEÇÃO INDIVIDUAL.

8.1 Parâmetros de controlo.

Limite de exposição durante o trabalho para:

| Nome | N. CAS | País | Valor-limite | ppm | mg/m ³ |
|----------------------------|-----------|--------------------|---------------|-------|------------------------|
| glycerol | 56-81-5 | Portugal [1] | Oito horas | 2,7 | 10 |
| | | | Curta duração | | |
| 2,2', 2''-nitrotrietanol | 102-71-6 | Portugal [1] | Oito horas | 0,82 | 5 |
| | | | Curta duração | | |
| 2,6-di-terc-butil-p-cresol | 128-37-0 | Portugal [1] | Oito horas | 0,22 | 2 |
| | | | Curta duração | | |
| ácido sulfúrico em solução | 7664-93-9 | European Union [2] | Oito horas | | 0,05 |
| | | | Curta duração | | |
| | | Portugal [1] | Oito horas | 0,050 | 0,2 (Fracção torácica) |
| | | | Curta duração | | |

[1] De acordo com Português Padrão 1796 adotou pelo Instituto português de qualidade.

[2] According both Binding Occupational Exposure Limits (BOELVs) and Indicative Occupational Exposure Limits (IOELVs) adopted by Scientific Committee for Occupational Exposure Limits to Chemical Agents (SCOEL).

O produto NÃO contém substâncias com Valores Biológicos Limite.

Níveis de concentração DNEL/DMEL:

| Nome | DNEL/DMEL | Tipo | Valor |
|---|---------------------------|---|------------------------------|
| glycerol N. CAS: 56-81-5 N. CE: 200-289-5 | DNEL (Workers) | Inhalation, Long-term, Local effects | 56 (mg/m ³) |
| 2,2', 2''-nitrotrietanol N. CAS: 102-71-6 N. CE: 203-049-8 | DNEL (Workers) | Inhalation, Long-term, Local effects | 5 (mg/m ³) |
| | DNEL (General population) | Inhalation, Long-term, Local effects | 1,25 (mg/m ³) |
| | DNEL (Workers) | Inhalation, Long-term, Systemic effects | 5 (mg/m ³) |
| | DNEL (General population) | Inhalation, Long-term, Systemic effects | 1,25 (mg/m ³) |
| | DNEL (Workers) | Dermal, Long-term, Systemic effects | 6,3 (mg/kg bw/day) |
| | DNEL (General population) | Dermal, Long-term, Systemic effects | 3,1 (mg/kg bw/day) |
| 2,6-di-terc-butil-p-cresol N. CAS: 128-37-0 N. CE: 204-881-4 | DNEL (Workers) | Oral, Long-term, Systemic effects | 13 (mg/kg bw/day) |
| | DNEL (Workers) | Inhalation, Long-term, Systemic effects | 3,5 (mg/m ³) |
| ácido sulfúrico em solução N. CAS: 7664-93-9 N. CE: 231-639-5 | DNEL (Workers) | Inhalation, Long-term, Local effects | 0,05 (mg/m ³) |

DNEL: Derived No Effect Level, (nível sem efeito obtido) nível de exposição à substância por baixo do qual não são previstos efeitos adversos.

DMEL: Derived Minimal Effect Level, nível de exposição que corresponde a um risco baixo, que deve ser considerado um risco mínimo tolerável.

Níveis de concentração PNEC:

| Nome | Detalhes | Valor |
|--------------------------|-------------------|-------------|
| 2,2', 2''-nitrotrietanol | agua (freshwater) | 0,32 (mg/L) |

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA

(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)

2924-CREME BASE O/W GUINAMA

Versão: 3

Data de revisão: 03/10/2018



Página 5 de 11

Data de impressão: 03-10-2018

| | | |
|--------------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| N. CAS: 102-71-6 N. CE: 203-049-8 | aqua (marine water) | 0,032 (mg/L) |
| | aqua (intermittent releases) | 5,12 (mg/L) |
| | PNEC STP | 10 (mg/L) |
| | sediment (freshwater) | 1,7 (mg/kg sediment dw) |
| | sediment (marine water) | 0,17 (mg/kg sediment dw) |
| | soil | 0,151 (mg/kg soil dw) |

PNEC: Predicted No Effect Concentration, (concentração prevista sem efeitos) concentração da substância por baixo da qual não são esperados efeitos negativos no comportamento ambiental.

8.2 Controlo da exposição.

Medidas de ordem técnica:

Prover uma ventilação adequada, o qual pode ser conseguido mediante uma boa extração -ventilação local e um bom sistema geral de extração.

| | | | |
|---|---|-----------------------------|---|
| Concentração: | 100 % | | |
| Usos: | Cosmético Matérias-primas para cosméticos Matéria-prima para produtos farmacêuticos. | | |
| Proteção respiratória: Se as medidas técnicas recomendadas forem cumpridas, não é necessário qualquer equipamento de proteção individual. | | | |
| Proteção das mãos: | | | |
| EPI: | Luvas de trabalho | | |
| Características: | Marcação «CE» Categoria I. | | |
| Normas CEN: | EN 374-1, EN 374-2, EN 374-3, EN 420 | | |
| Manutenção: | Devem ser guardadas em lugar seco, afastadas de eventuais fontes de calor, e deve-se evitar a exposição aos raios solares na medida do possível. Não devem ser efectuadas nas luvas quaisquer modificações que possam alterar a sua resistência e também não se devem aplicar nas mesmas tintas, solventes ou adesivos. | | |
| Observações: | As luvas devem ser do tamanho correcto, e ser ajustadas à mão sem ficarem demasiado folgadas nem demasiado apertadas. Deverão ser sempre utilizadas com as mãos limpas e secas. | | |
| Material: | PVC (cloreto polivinílico) | Tempo de penetração (min.): | > 480 Espessura do material (mm): 0,35 |
| Proteção dos olhos: | | | |
| EPI: | Óculos de protecção contra impactos de partículas | | |
| Características: | Marcação «CE» Categoria II. Protector dos olhos contra pó e fumos. | | |
| Normas CEN: | EN 165, EN 166, EN 167, EN 168 | | |
| Manutenção: | A visibilidade através dos óculos deve ser óptima, razão pela qual se devem limpar diariamente estes elementos, devendo os protectores ser desinfectados periodicamente, seguindo as instruções do fabricante. | | |
| Observações: | Exemplos de indicadores de deterioração: coloração amarela das lentes, arranhões superficiais das lentes, rasgões, etc. | | |
| Proteção da pele: | | | |
| EPI: | Roupa de protecção | | |
| Características: | Marcação «CE» Categoria II. A roupa de protecção não deve ser estreita nem ficar solta para que não interfira nos movimentos do utilizador. | | |
| Normas CEN: | EN 340 | | |
| Manutenção: | Devem-se seguir as instruções de lavagem e conservação proporcionadas pelo fabricante para se garantir uma protecção invariável. | | |
| Observações: | A roupa de protecção deve proporcionar um nível de conforto em consonância com o nível de protecção que deve proporcionar face ao risco contra o qual protege, com as condições ambientais, o nível de actividade do utilizador e o tempo de uso previsto. | | |
| EPI: | Calçado de trabalho | | |
| Características: | Marcação «CE» Categoria II. | | |
| Normas CEN: | EN ISO 13287, EN 20347 | | |
| Manutenção: | Estes artigos adaptam-se à forma do pé do primeiro utilizador. Por este motivo, e igualmente por questões de higiene, deve-se evitar a sua reutilização por qualquer outra pessoa. | | |
| Observações: | O calçado de trabalho para uso profissional é o que incorpora elementos de protecção destinados à protecção do utilizador contra as lesões que possam provocar acidentes | | |

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA
(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)
2924-CREME BASE O/W GUINAMA



Versão: 3
Data de revisão: 03/10/2018

Página 6 de 11
Data de impressão: 03-10-2018

SECÇÃO 9: PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.

9.1 Informações sobre propriedades físicas e químicas de base.

Aspecto: Emulsion

Cor: Branco

Odor: Característica

Limiar olfativo: N.D./N.A.

pH: 5,5-6,5 A 20°C

Ponto de fusão: N.D./N.A.

Ponto de ebulição: N.D./N.A.

Ponto de inflamação: > 60 °C

Taxa de evaporação: N.D./N.A.

Inflamabilidade (sólido, gás): N.D./N.A.

Limite inferior explosão: N.D./N.A.

Limite superior explosão: N.D./N.A.

Pressão de vapor: N.D./N.A.

Densidade do vapor: N.D./N.A.

Densidade relativa: N.D./N.A.

Solubilidade: N.D./N.A.

Lipossolubilidade: N.D./N.A.

Hidrossolubilidade: N.D./N.A.

Coefficiente de repartição (n-octanol/água): N.D./N.A.

Temperatura de auto-ignição: N.D./N.A.

Temperatura de decomposição: N.D./N.A.

Viscosidade: N.D./N.A.

Propriedades explosivas: N.D./N.A.

Propriedades comburentes: N.D./N.A.

N.D./N.A.= Não Disponível/Não Aplicável devido à natureza do produto.

Propriedades microbiológicas:

AEROBIC total, incluindo leveduras e bolores CORRETO

Máxima contagem em placas de 100 UFC / g de produto

Ausência de Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli e Candida albicans por grama de produto CORRETO

9.2 Outras informações.

Ponto de fluidez: N.D./N.A.

Cintilação: N.D./N.A.

Viscosidade cinemática: N.D./N.A.

N.D./N.A.= Não Disponível/Não Aplicável devido à natureza do produto.

SECÇÃO 10: ESTABILIDADE E REATIVIDADE.

10.1 Reatividade.

O produto não apresentar riscos devido à sua reactividade.

10.2 Estabilidade química.

Instável em contato com:

- Bases.

10.3 Possibilidade de reacções perigosas.

Pode produzir-se uma neutralização em contato com bases.

10.4 Condições a evitar.

- Evitar o contato com bases.

10.5 Materiais incompatíveis.

Evitar os seguintes materiais:

- Bases.

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA
(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)
2924-CREME BASE O/W GUINAMA



Versão: 3
Data de revisão: 03/10/2018

Página 7 de 11
Data de impressão: 03-10-2018

10.6 Produtos de decomposição perigosos.

Dependendo das condições de uso, podem ser gerados os seguintes produtos:
- Vapores ou gases corrosivos.

SECÇÃO 11: INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA.

11.1 Informações sobre os efeitos toxicológicos.

O contacto repetido ou prolongado com o produto, pode causar a eliminação da gordura da pele, dando lugar a uma dermatite de contacto não alérgica e a que o produto seja absorvido através da pele.

Informação Toxicológica sobre as substâncias presentes na composição.

| Nome | Toxicidade aguda | | | |
|---|------------------|--------|--|--|
| | Tipo | Ensaio | Espécie | Valor |
| 2,2', 2''- nitrotrietanol N. CAS: 102-71-6 N. CE: 203-049-8 | Oral | LD50 | Rat | 5530 mg/kg bw [1] |
| | | LD50 | Rat | 6400 mg/kg bw [2] |
| | Cutânea | | | [1] National Technical Information Service. Vol. OTS0516797 [2] Study report, 1966. |
| | | LD50 | Rabbit | > 22500 mg/kg bw [1] |
| Inalação | | | [1] Union Carbide Data Sheet. Vol. 3/18/1965 | |

a) Toxicidade aguda;
Dados não inclusivos para a classificação.

Estimativa de toxicidade aguda (ATE):
Misturas:
ATE (Oral) = 16.667 mg/kg

b) Corrosão/irritação cutânea;
Com base nos dados disponíveis, os critérios de classificação não são preenchidos.

c) Lesões oculares graves/irritação ocular;
Produto classificado:
Lesões oculares graves, Categoria 1: Provoca lesões oculares graves.

d) Sensibilização respiratória ou cutânea;
Dados não inclusivos para a classificação.

e) Mutagenicidade em células germinativas;
Dados não inclusivos para a classificação.

f) Carcinogenicidade;
Dados não inclusivos para a classificação.

g) Toxicidade reprodutiva;
Dados não inclusivos para a classificação.

h) Toxicidade para órgãos-alvo específicos (STOT) - exposição única;
Dados não inclusivos para a classificação.

i) Toxicidade para órgãos-alvo específicos (STOT) - exposição repetida;
Dados não inclusivos para a classificação.

j) Perigo de aspiração.
Dados não inclusivos para a classificação.

SECÇÃO 12: INFORMAÇÃO ECOLÓGICA.

12.1 Toxicidade.

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA

(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)

2924-CREME BASE O/W GUINAMA



Versão: 3
Data de revisão: 03/10/2018

Página 8 de 11
Data de impressão: 03-10-2018

| Nome | Ecotoxicidade | | | |
|--|-------------------------|---|---------------------|------------------------|
| | Tipo | Ensaio | Espécie | Valor |
| 2,2', 2''- nitrilotrietanol N. CAS: 102-71-6 N. CE: 203-049-8 | Peixes | LC50 | Carassius auratus | >5000 mg/L (24 h) [1] |
| | | LC50 | Leuciscus idus | >10000 mg/l (48 h) [2] |
| [1] Experimental result, Study meets generally accepted scientific principles. however, exposure period only 24 h instead of 96 h according to recent guidelines (e.g. OECD 203). [2] Study meets generally accepted scientific principles. however, exposure period only 48 h instead of 96 h according to recent guidelines (e.g. OECD 203) | | | | |
| | Invertebrados aquáticos | EC50 | Artemia salina | 5600 mg/L (24 h) [1] |
| | | EC50 | Daphnia magna | 2038 mg/l (24 h) [2] |
| | | [1] Brine shrimp bioassay and seawater BOD of petrochemicals. Price KS, Waggy GT and Conway RA, 1974. [2] Results of the harmful effects of water pollutants to Daphnia magna in the 21 day reproduction test. Kuehn R, Pattard M, Pernak KD and Winter A. 1989. | | |
| Plantas aquáticas | EC0 | Colpoda | 160 mg/l [1] | |
| | TTC | Scenedesmus quadricauda | 715 mg/l (8 d) [2] | |
| | EC50 | Scenedesmus subspicatus | 750 mg/l (48 h) [3] | |
| [1] Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals, 2nd ed. Van Nostrand Reinhold Co., New York, USA: 518-519. [2] Testing of substances for their toxicity threshold: Model organisms Microcystis(Diplocystis) aeruginosa and Scenedesmus quadricauda. [3] Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (Scenedesmus subspicatus) in the cell multiplication inhibition test. | | | | |

12.2 Persistência e degradabilidade.

Não se dispõe de informação relativa à biodegradabilidade das substâncias presentes.

Não se dispõe de informação relativa à degradabilidade das substâncias presentes. Não há informação disponível sobre a persistência e degradabilidade do produto.

12.3 Potencial de bioacumulação.

Informações relativas à Bioacumulação das substâncias presentes.

| Nome | Bioacumulação | | | |
|---|---------------|-----|-------|-------------|
| | Log Pow | BCF | NOECs | Nível |
| glycerol N. CAS: 56-81-5 N. CE: 200-289-5 | -1,76 | - | - | Muito baixo |
| 2,2', 2''- nitrilotrietanol N. CAS: 102-71-6 N. CE: 203-049-8 | -1 | - | - | Muito baixo |

12.4 Mobilidade no solo.

Não há informação disponível sobre a mobilidade no solo.

Não é permitido o vertido em sumidouros ou cursos de água.

Evitar a penetração no solo.

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA

(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)

2924-CREME BASE O/W GUINAMA



Versão: 3
Data de revisão: 03/10/2018

Página 9 de 11
Data de impressão: 03-10-2018

12.5 Resultados da avaliação PBT e mPmB.

Não há informações disponíveis sobre a avaliação PBT e mPmB do produto.

12.6 Outros efeitos adversos.

Não há informação sobre outros efeitos adversos para o meio ambiente.

SECÇÃO 13: CONSIDERAÇÕES RELATIVAS À ELIMINAÇÃO.

13.1 Métodos de tratamento de resíduos.

Não é permitido o vertido em sumidouros ou cursos de água. Os resíduos e recipientes vazios devem ser manipulados e eliminados de acordo com as legislações locais/nacionais vigentes.

Siga as disposições da Directiva 2008/98/CE relativas à gestão de resíduos.

SECÇÃO 14: INFORMAÇÕES RELATIVAS AO TRANSPORTE.

Não é perigoso no transporte. Em caso de acidente e derrame do produto, actuar de acordo com o ponto 6.

14.1 Número ONU.

Não é perigoso no transporte.

14.2 Designação oficial de transporte da ONU.

Descrição:

ADR: Não é perigoso no transporte.

IMDG: Não é perigoso no transporte.

OACI/IATA: Não é perigoso no transporte.

14.3 Classes de perigo para efeitos de transporte.

Não é perigoso no transporte.

14.4 Grupo de embalagem.

Não é perigoso no transporte.

14.5 Perigos para o ambiente.

Não é perigoso no transporte.

14.6 Precauções especiais para o utilizador.

Não é perigoso no transporte.

14.7 Transporte a granel em conformidade com o anexo II da Convenção MARPOL e o Código IBC.

Não é perigoso no transporte.

SECÇÃO 15: INFORMAÇÃO SOBRE REGULAMENTAÇÃO.

15.1 Regulamentação/legislação específica para a mistura em matéria de saúde, segurança e ambiente.

O produto não é afetado pelo Regulamento (CE) nº 1005/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Setembro de 2009, relativo às substâncias que empobrecem a camada de ozono.

O produto não está afetado pela Directiva 2012/18/UE (SEVESO III).

O produto não está afetado pelo Regulamento (UE) No 528/2012 relativo à comercialização e ao uso dos biocidas.

O produto não está afetado pelo procedimento estabelecido no Regulamento (UE) No 649/2012, relativo à exportação e importação de produtos químicos perigosos.

Restrições ao fabrico, colocação no mercado e utilização de certas substâncias, misturas e artigos perigosos:

| Denominação da substância, dos grupos de substâncias ou das misturas | Condições de restrição |
|---|--|
| 70. Octametildiclotetrassiloxano (D4) N.º CAS: 556-67-2 N.º CE: 209-136-7 | 1. Não podem ser colocados no mercado em produtos cosméticos enxaguados quando a concentração for igual ou superior a 0,1 %, em peso, de qualquer das substâncias, após 31 de janeiro de 2020. |
| Decametildiclopentassiloxano (D5) | 2. Para efeitos da presente entrada, entende-se por «produto cosmético |

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA

(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)

2924-CREME BASE O/W GUINAMA



Versão: 3
Data de revisão: 03/10/2018

Página 10 de 11
Data de impressão: 03-10-2018

| | |
|--|--|
| N.o CAS: 541-02-6 N.o CE: 208-764-9 | enxaguado» qualquer produto cosmético tal como definido no artigo 2.o, n.o 1, alínea a), do Regulamento (CE) n.o 1223/2009 que, em condições normais de utilização, é enxaguado com água após aplicação. |
|--|--|

15.2 Avaliação da segurança química.

Não foi realizada uma avaliação da segurança química do produto.

SECÇÃO 16: OUTRAS INFORMAÇÕES.

Texto completo das frases H que aparecem no epígrafe 3:

| | |
|------|---|
| H302 | Nocivo por ingestão. |
| H314 | Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. |
| H318 | Provoca lesões oculares graves. |
| H319 | Provoca irritação ocular grave. |
| H410 | Muito tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. |

Códigos de classificação:

Acute Tox. 4 : Toxicidade aguda (Via oral), Categoria 4
Aquatic Chronic 1 : Efeitos crónicos para o ambiente aquático, Categoria 1
Eye Dam. 1 : Lesões oculares graves, Categoria 1
Eye Irrit. 2 : Irritação ocular, Categoria 2
Skin Corr. 1A : Corrosivo cutâneo, Categoria 1A

Seções modificadas em comparação com a versão anterior:

1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16

Recomenda-se que só utilize o produto para os usos previstos.

Informações sobre o Inventário TSCA (Toxic Substances Control Act) USA:

| N. CAS | Nome | Estado |
|------------|-----------------------------|------------|
| 56-81-5 | glycerol | Registrado |
| 68439-49-6 | Álcoois, C16-18, etoxilados | Registrado |
| 102-71-6 | 2,2', 2''- nitriлотrietanol | Registrado |
| 128-37-0 | 2,6-di-terc-butil-p-cresol | Registrado |
| 7664-93-9 | ácido sulfúrico em solução | Registrado |

Classificação de risco do sistema NFPA 704:



Health hazard: 0 (Normal Material)

Flammability: 0 (Will not burn)

Reactivity: 0 (Stable)

Abreviaturas e siglas utilizadas:

BCF: Factor de bioconcentração.

CEN: Comité Europeu de Normalização.

DMEL: Derived Minimal Effect Level, nível de exposição que corresponde a um risco baixo, que deve ser

-Continua na página seguinte.-

FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA

(de acordo com o Regulamento (UE) 2015/830)

2924-CREME BASE O/W GUINAMA



Versão: 3

Data de revisão: 03/10/2018

Página 11 de 11

Data de impressão: 03-10-2018

- considerado um risco mínimo tolerável.
- DNEL: Derived No Effect Level, (nível sem efeito obtido) nível de exposição à substância por baixo do qual não são previstos efeitos adversos.
- EC50: Concentração média eficaz.
- EPI: Equipamento de proteção individual.
- LC50: Concentração letal, 50%.
- LD50: Dose Letal, 50%.
- Log Pow: Logaritmo do coeficiente de partição octanol-água.
- NOEC: Não se observou efeito de concentração.
- PNEC: Predicted No Effect Concentration, (concentração prevista sem efeitos) concentração da substância por baixo da qual não são esperados efeitos negativos no comportamento ambiental.

Principais referências bibliográficas e fontes de dados:

<http://eur-lex.europa.eu/homepage.html>

<http://echa.europa.eu/>

Regulamento (UE) 2015/830.

Regulamento (CE) No 1907/2006.

Regulamento (UE) No 1272/2008.

A informação facilitada nesta ficha de Dados de Segurança foi redigida de acordo com o REGULAMENTO (UE) 2015/830 DA COMISSÃO de 28 de maio de 2015 que altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho relativo ao registo, avaliação, autorização e restrição dos produtos químicos (REACH), que cria a Agência Europeia das Substâncias Químicas, que altera a Directiva 1999/45/CE e revoga o Regulamento (CEE) n.º 793/93 do Conselho e o Regulamento (CE) n.º 1488/94 da Comissão, bem como a Directiva 76/769/CEE do Conselho e as Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE e 2000/21/CE da Comissão.

A informação desta Ficha de Dados de Segurança da mistura está baseada nos conhecimentos actuais e nas leis vigentes da CE e nacionais, quanto a que as condições de trabalho dos utilizadores estiverem fora do nosso conhecimento e controlo. O produto não deve ser utilizado para fins distintos àqueles que são especificados, sem ter primeiro uma instrução por escrito, da sua utilização. É sempre responsabilidade do utilizador tomar as medidas oportunas com a finalidade de cumprir com as exigências estabelecidas nas legislações.

-Fim da ficha de dados de segurança.-