

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MINAS,
METALÚRGICA E DE MATERIAIS

MARIANA POHLMANN DE OLIVEIRA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS
CONTENDO MULTICOMPONENTES VEGETAIS VISANDO À APLICAÇÃO EM
PRODUTOS PARA HIGIENE ÍNTIMA FEMININA**

Porto Alegre

2017

MARIANA POHLMANN DE OLIVEIRA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS
CONTENDO MULTICOMPONENTES VEGETAIS VISANDO À APLICAÇÃO EM
PRODUTOS PARA HIGIENE ÍNTIMA FEMININA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Engenharia.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Kindlein Júnior

Coorientadora: Profa. Dra. Sílvia Stanisçuaski Guterres

Porto Alegre

2017

MARIANA POHLMANN DE OLIVEIRA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS
CONTENDO MULTICOMPONENTES VEGETAIS VISANDO À APLICAÇÃO EM
PRODUTOS PARA HIGIENE ÍNTIMA FEMININA**

Este tese foi analisada e julgada adequada para a obtenção do título de Doutora em Engenharia e aprovado em sua forma final pelo Orientador, pela Coorientadora e pela Banca Examinadora designada pelo Programa de Pós Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. Wilson Kindlein Júnior (Orientador)

Profa. Dra. Sílvia Stanisçuaski Guterres (Coorientadora)

Prof. Dr. Carlos Pérez Bergmann (Coordenador)

Aprovada em: 07/03/2017.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Tatiana Louise Ávila de Campos Rocha (UNISINOS)

Profa. Dra. Irene Clemes Kùlkamp Guerreiro (UFRGS)

Profa. Dra. Annelise Kopp Alves (UFRGS)

AGRADECIMENTOS

A minha família, em especial aos meus pais, Angela e João (*in memoriam*), aos meus avós, Anna e João Paulo, e as minhas irmãs, Carolina e Luíza, pelo apoio e dedicação incondicionais.

Aos meus orientadores, professor Wilson Kindlein Júnior e professora Sílvia Stanisçuaski Guterres, por acreditarem neste trabalho e por sempre me incentivarem a seguir em frente apesar das dificuldades enfrentadas durante essa trajetória.

À professora Karina Paese que me assessorou durante todas as etapas de produção e caracterização das nanopartículas. Agradeço pela atenção e, principalmente, pela paciência durante o andamento deste trabalho.

A toda equipe do LdSM e do Laboratório de Farmacotécnica 405, especialmente Wagner Rossi, pelo auxílio com a impregnação; Gregory Svetlichny, Tainá Kreutz e Mariana Colombo, pelo auxílio na produção das nanopartículas; Luiza Frank, pelo auxílio nas análises de lavabilidade, permeação e penetração; ao professor Fábio Pinto pelo assessoramento durante os procedimentos experimentais e na análise estatística.

Ao Frigorífico Borrússia, por fornecer as vaginas de suínos. Ao professor Sérgio Vieira e Eveline Berwanger, do Departamento de Zootecnia (Faculdade de Agronomia, UFRGS) por fornecer os ovos embrionados.

À banca examinadora, que gentilmente aceitou o convite de participar da defesa desta tese.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas Metalúrgica e de Materiais (UFRGS) e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (UFRGS).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro a esta pesquisa.

RESUMO

Práticas de higiene têm influência sobre a microbiota vulvovaginal. Esse ecossistema é responsável pela prevenção de doenças. Alguns produtos para higienização da região íntima feminina possuem em sua composição substâncias nocivas à saúde. Sendo assim, composições à base de materiais naturais vêm sendo utilizadas em produtos cosméticos e de higiene. Componentes, como as manteigas e os óleos essenciais, são lipofílicos ou hidrofóbicos. Desta forma, a nanotecnologia apresenta-se como uma alternativa para a incorporação de substâncias lipofílicas em meio aquoso. Sendo assim, o objetivo principal deste trabalho é desenvolver um insumo cosmético de base nanotecnológica contendo substâncias de origem vegetal cujas propriedades auxiliem na manutenção do equilíbrio da microbiota vulvovaginal e que seja passível de ser utilizada em produtos para a higiene íntima, tais como sabonete, absorvente e lenço umedecido. Para a obtenção das dispersões aquosas de carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) foi utilizado o método de homogeneização a alta pressão. Os ensaios de caracterização e de estabilidade realizados por determinação do valor de pH, espalhamento de luz dinâmico, difratometria de laser e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) indicaram que a dispersão aquosa de CLN, denominada Pheetocare, permaneceu estável durante o período de análise. Para a produção do sabonete, 0,5 % (p/p) de hidroxietilcelulose (espessante) e diferentes concentrações de lauril éter sulfosuccinato de sódio (tensoativo) foram incorporados à dispersão de CLN Pheetocare. De acordo com a análise de estabilidade, ficou estabelecido que 5 % (p/p) de tensoativo é a concentração adequada para integrar a formulação do sabonete. A dispersão aquosa de CLN Pheetocare e o sabonete foram submetidos a ensaios *in vitro* para verificar a interação com a mucosa vaginal e seu potencial irritante. As análises de lavabilidade, permeação e penetração indicaram que a dispersão aquosa de CLN Pheetocare pode ser considerada segura para a aplicação em produtos de higiene íntima feminina. Nos ensaios de irritabilidade em modelo de HET-CAM, a dispersão aquosa de CLN Pheetocare foi classificada como não irritante. O mesmo não aconteceu com o sabonete, o qual foi considerado extremamente irritante devido ao tensoativo e ao espessante que foram incorporados. A produção da cobertura dos absorventes foi realizada pela

impregnação da dispersão aquosa de CLN Pheetocare em tecido não-tecido (TNT). Antes da impregnação, o TNT foi caracterizado. O espectro gerado pela análise por FTIR/ATR indica que o material é composto de polipropileno. As fotomicrografias obtidas por MEV revelam que o TNT é fabricado pelo processo de fiação contínua (*spunbond*) e consolidação térmica por pontos (*pointbonding*). As amostras de TNT impregnadas com a dispersão aquosa de CLN Pheetocare foram avaliadas quanto à massa adquirida, fotomicrografias por MEV e medição da taxa de capilaridade. Os resultados indicaram que o método mais eficaz é a impregnação por aspersão sem a necessidade de tratar as amostras previamente. Para a produção dos lenços umedecidos, recomenda-se o mesmo procedimento de impregnação, porém utilizando a formulação do sabonete.

Palavras-chaves: Carreadores lipídicos nanoestruturados. Tecido não-tecido. Impregnação. Higiene íntima feminina.

ABSTRACT

Hygiene practices have influence on vulvovaginal microbiota. This ecosystem is responsible for disease prevention. Some products for cleansing the female intimate area have in their composition substances harmful to health. Thus, natural materials-based compositions have been used in cosmetics and hygiene products. Components such as butters and essential oils are lipophilic or hydrophobic. Therefore, nanotechnology is considered an alternative for the incorporation of lipophilic substances in aqueous media. Thus, the main objective of this work is to develop a cosmetic supply of nanotech base containing substances of vegetable origin whose properties assist in maintaining balance of vulvovaginal microbiota and that is likely to be used in products for personal hygiene, such as wash, sanitary napkin and wet wipes. To obtain the aqueous dispersions of nanostructured lipid carriers (NLC) was used the high pressure homogenization method. Both characterization and stability tests carried out by determination of pH, dynamic light scattering, laser diffraction and high-performance liquid chromatography (HPLC) indicated that the aqueous dispersion of NLC, named Pheetocare, remained stable during the study period. For the production of soap, 0.5% (w/w) hydroxyethyl cellulose (thickening agent) and different concentrations of disodium laureth sulfosuccinate (surfactant) were added to the aqueous dispersion of NLC Pheetocare. According to the stability analysis, 5% (w/w) surfactant concentration is suitable to integrate the intimate wash formulation. The aqueous dispersion of NLC Pheetocare and the intimate wash were subjected to *in vitro* testing to verify their interaction with the vaginal mucosa and irritation potential. Washability, permeation and penetration tests indicated that the aqueous dispersion of NLC Pheetocare can be considered as safe for use in feminine hygiene products. In HET-CAM test, the aqueous dispersion CLN Pheetocare was classified as non-irritating. The same result was not obtained with the intimate wash, which was considered extremely irritant due to the surfactant and the thickener that were incorporated. The sanitary napkin top sheet production was performed by impregnating the aqueous dispersion of NCL Pheetocare in nonwoven fabric. Before impregnation, the nonwoven fabric was characterized. The spectrum obtained by FTIR/ATR analysis indicates that the material consists of polypropylene. The SEM photomicrographs show that the

nonwoven is manufactured by spunbond and pointbonding. The nonwoven samples impregnated with aqueous dispersion of CLN Pheetocare were evaluated for the acquired mass by SEM photomicrographs and by capillary flow measurement. Obtained results indicated that the most effective method is the impregnation by spraying without samples pretreatment. For wet wipes production, it is recommended the same impregnation procedure, but using the intimate wash formulation.

Keywords: Nanostructured lipid carriers. Nonwoven. Impregnation. Intimate feminine hygiene.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura básica de absorventes higiênicos e protetores diários.	25
Figura 2 – Esquema da supraestrutura de nanossistemas.	46
Figura 3 – Esquema da estrutura de carreadores lipídicos nanoestruturados.	48
Figura 4 – Fluxograma das etapas contempladas nos procedimentos experimentais.	58
Figura 5 – Desenho esquemático da célula de Franz utilizada na análise de lavabilidade.	66
Figura 6 – Desenho esquemático da célula de Franz utilizada na análise de permeação.	68
Figura 7 – Distribuição do tamanho de partícula dos nanocarreadores lipídicos de manteiga de cacau.	74
Figura 8 – Distribuição do tamanho de partícula dos nanocarreadores lipídicos de manteiga de cupuaçu.	75
Figura 9 – Distribuição do tamanho de partícula por difratometria de laser da dispersão de CLN Alfa-b.	77
Figura 10 – Distribuição do tamanho de partícula por espalhamento de luz da dispersão aquosa de CLN Alfa-b.	78
Figura 11 – Distribuição do tamanho de partícula por difratometria de laser da dispersão aquosa de CLN Pheetocare.	80
Figura 12 – Distribuição do tamanho de partícula por espalhamento de luz da dispersão aquosa de CLN Pheetocare.	81
Figura 13 – Distribuição do tamanho de partícula por difratometria de laser da formulação do sabonete.	82
Figura 14 – Distribuição do tamanho de partícula por difratometria de laser da formulação do sabonete sem a dispersão aquosa de CLN Pheetocare.	83
Figura 15 – Porcentagem de resveratrol lavado durante o experimento.	84

Figura 16 – Permeação de resveratrol levando em consideração o fluido vaginal aos 240 minutos de experimento.	86
Figura 17 – Porcentagem de resveratrol permeado durante o experimento.	87
Figura 18 – Quantidade de resveratrol penetrada.....	88
Figura 19 – Hemorragia e coagulação provocados pela aplicação de NaOH em membrana cório-alantóide.....	89
Figura 20 – Avaliação da irritabilidade da dispersão aquosa CLN Pheetocare.	90
Figura 21 – Avaliação da irritabilidade da formulação do sabonete.	90
Figura 22 – Espectros gerados pela análise por FTIR/ATR das telas polimérica de protetores diários disponíveis no mercado.	93
Figura 23 – Fotomicrografias de telas polimérica dos protetores diários disponíveis no mercado.....	94
Figura 24 – Fotomicrografia de fibras de algodão.....	95
Figura 25 – Medição (em mm) da taxa de capilaridade da tela polimérica de protetores diários disponíveis no mercado.	96
Figura 26 – Espectro gerado pela análise por FTIR do tecido não-tecido.....	96
Figura 27 – Fotomicrografias do TNT utilizado no desenvolvimento deste trabalho.	97
Figura 28 – Sentidos (longitudinal e transversal) das amostras para a medição da taxa de capilaridade.	98
Figura 29 – Fotomicrografias das amostras de TNT (com aumentos de 50 e 400 vezes) depois passarem por diferentes métodos de impregnação das dispersões de CLN Alfa-b.....	99
Figura 30 – Massa adquirida das amostras de tecido não-tecido após impregnação com CLN Alfa-b <i>versus</i> massa adquirida das amostras impregnadas com suspensão controle.	101
Figura 31 – Medição (em mm) da taxa de capilaridade das amostras de tecido não-tecido após serem impregnados com a dispersão aquosa de	

CLN Alfa-B <i>versus</i> a capilaridade das amostras impregnadas com a suspensão controle.	102
Figura 32 – Amostras impregnadas com a dispersão aquosa CLN Alfa-b e com a suspensão controle.	104
Figura 33 – Massa adquirida das amostras de tecido não-tecido após impregnação com CLN Pheetocare <i>versus</i> massa adquirida das amostras impregnadas com suspensão controle.	105
Figura 34 – Medição (em mm) da taxa de capilaridade das amostras de tecido não-tecido após serem impregnados com a dispersão aquosa de CLN Pheetocare <i>versus</i> a capilaridade das amostras impregnadas com a suspensão controle.....	106
Figura 35 – Selo para indicar a presença da dispersão aquosa de CLN Pheetocare.	145
Figura 36 – Configuração da embalagem do sabonete para uso íntimo.	146
Figura 37 – Configuração da embalagem dos protetores diários.	147
Figura 38 – Configuração da embalagem dos lenços umedecidos.	147

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1 – Inovações nos absorventes higiênicos.....	27
Tabela 2 – Inovações em lenços umedecidos para mulheres.....	30
Tabela 3 – Inovações em sabonetes íntimos femininos.....	32
Tabela 4 – Inovações feitas em substâncias para cuidados gerais da região íntima feminina.....	35
Tabela 5 – Composição de ácidos graxos (%) de manteiga de cacau em alguns países de origem.....	51
Tabela 6 – Teste piloto: concentração dos componentes das formulações de CLN.....	60
Tabela 7 – Concentração dos componentes da dispersão aquosa de CLN Alfa-b.....	61
Tabela 8 – Concentração dos componentes da dispersão aquosa de CLN Pheetocare.....	62
Tabela 9 – Diâmetro médio das partículas e distribuição granulométrica das formulações NLC, NLCc, NLG e NLGc.....	73
Tabela 10 – Estabilidade físico-química da dispersão de CLN Alfa-b.....	77
Tabela 11 – Estabilidade físico-química da dispersão aquosa de CLN Pheetocare.....	79
Tabela 12 – Quantidade de resveratrol lavado e permeado após 240 min.....	87
Tabela 13 – Pontuação e classificação de irritabilidade (HET-CAM).....	91

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AHA	Alfa-hidroxiácidos
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
bar	unidade de pressão que equivale a 100000 pascal
BHT	Hidroxitolueno butilado
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLN	Carreadores lipídicos nanoestruturados
CVV	Candidíase vulvovaginal
d_{0,1}	Diâmetro de partículas correspondentes a 10% da distribuição acumulada
d_{0,5}	Diâmetro de partículas correspondentes a 50% da distribuição acumulada
d_{0,9}	Diâmetro de partículas correspondentes a 90% da distribuição acumulada
d_{4,3}	Diâmetro médio baseado no volume
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz (do inglês, <i>Dinamic Light Scattering</i>)
EDC	Desreguladores endócrinos (do inglês, <i>Endocrine Disrupting Chemicals</i>)
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva (do inglês, <i>Energy Dispersive Spectroscopy</i>)
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (do inglês, <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
kV	Quilovolt; equivale a 1.000 Volts (V)
MET	Microscópio Eletrônico de Transmissão
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
MFA	Microscópio de Força Atômica

mM	Milimol; equivale à milésima parte de um mol
NBR	Norma brasileira
NLC	Nanocarreador lipídico de manteiga de cacau (sem ácido cítrico)
NLCc	Nanocarreador lipídico de manteiga de cacau (com ácido cítrico)
NLG	Nanocarreador lipídico de manteiga de cupuaçu (sem ácido cítrico)
NLGc	Nanocarreador lipídico de manteiga de cupuaçu (com ácido cítrico)
NLS	Nanopartículas lipídicas sólidas
Ø	Diâmetro
PCS	Espectroscopia de Correlação de Fótons
PDI	Índice de Polidispersão (do inglês, <i>Polydispersity Index</i>)
pH	Potencial hidrogeniônico
p/p	Relação de concentração: massa (g) de soluto em 100 g de solução
psi	Libra força por polegada quadrada (do inglês, <i>pound force per square inch</i>); equivale a 6894,801 pascal
p/v	Relação de concentração: massa (g) de soluto em 100 mL de solução
PZ	Potencial zeta
SUS	Sistema único de saúde
TNT	Tecido não-tecido ¹
UV	Radiação ultravioleta
v/v	Relação de concentração: volume (mL) de soluto em 100 mL de solução
W	Watt

¹ O termo *tecido não-tecido* está grafado conforme descrito na NBR-13370:2002 (ABNT, 2002, p. 4).

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	Objetivos	21
1.1.1	Objetivo Geral	21
1.1.2	Objetivos Específicos.....	21
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
2.1	Produtos para higiene íntima feminina.....	23
2.1.1	Absorventes higiênicos e protetores diários	24
2.1.2	Lenços umedecidos	29
2.1.3	Sabonetes íntimos	30
2.2	Substâncias utilizadas para a higiene íntima feminina.....	33
2.2.1	Óleo essencial de melaleuca (<i>M. alternifolia</i>).....	39
2.2.2	Alfa-bisabolol	41
2.2.3	Ácido cítrico	42
2.2.4	Resveratrol	43
2.2.5	Óleo de semente de uva.....	44
2.3	Sistemas de liberação.....	44
2.3.1	Nanopartículas lipídicas.....	47
2.4	Materiais utilizados como matriz lipídica	49
2.4.1	Manteiga de cacau	50
2.4.2	Manteiga de cupuaçu	51
2.5	Controle de qualidade de sistemas nanoestruturados	52
2.6	Impregnação de substâncias em têxteis	55
3	MATERIAIS E MÉTODOS	58

3.1	Teste piloto: produção de dispersões aquosas de CLN utilizando como matriz lipídica manteiga de cacau ou manteiga de cupuaçu	59
3.2	Produção da dispersão aquosa de CLN Alfa-b	61
3.3	Produção da dispersão aquosa de CLN Pheetocare	62
3.4	Caracterização físico-química das formulações.....	63
3.4.1	Determinação do pH	63
3.4.2	Determinação do diâmetro de partícula.....	63
3.4.3	Potencial zeta	64
3.4.4	Estabilidade das dispersões de CLN	64
3.4.5	Teor de resveratrol na dispersão aquosa de CLN Pheetocare	65
3.5	Produção e estabilidade do sabonete	65
3.6	Ensaio <i>in vitro</i> da dispersão aquosa de CLN Pheetocare	66
3.6.1	Análise da lavabilidade em mucosa vaginal suína	66
3.6.2	Análise da permeação em mucosa vaginal suína.....	67
3.6.3	Análise da penetração em mucosa vaginal suína.....	68
3.6.4	Análise estatística.....	69
3.6.5	Ensaio de irritação em modelo de HET-CAM	69
3.7	Caracterização do tecido não-tecido (TNT)	70
3.8	Impregnação das dispersões aquosas de CLN no TNT	71
3.9	Produção dos lenços umedecidos	72
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
4.1	Teste piloto: caracterização físico-química e estabilidade das dispersões aquosas de CLN.....	73
4.2	Caracterização físico-química e estabilidade da dispersão aquosa de CLN Alfa-b.....	76
4.3	Caracterização físico-química e estabilidade da dispersão aquosa de CLN Pheetocare	79

4.4	Produção e estabilidade do sabonete.....	81
4.5	Ensaio <i>in vitro</i> da dispersão aquosa de CLN Pheetocare	83
4.5.1	Análise da lavabilidade em mucosa vaginal suína	83
4.5.2	Análise da permeação em mucosa vaginal suína.....	86
4.5.3	Análise da penetração em mucosa vaginal suína.....	88
4.5.4	Ensaio de irritação em modelo de HET-CAM	89
4.6	Caracterização do tecido não-tecido.....	92
4.7	Impregnação da dispersão de CLN Alfa-b no TNT	98
4.8	Impregnação da dispersão aquosa de CLN Pheetocare no TNT.....	104
4.9	Produção dos lenços umedecidos	107
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	109
5.1	Sugestões para trabalhos futuros	113
	REFERÊNCIAS.....	114
	APÊNDICE A – Configuração das embalagens de sabonete, protetor diário e lenço umedecido contendo a dispersão aquosa de CLN Pheetocare.....	144
	APÊNDICE B – Publicações referentes à presente Tese de Doutorado	148

1 INTRODUÇÃO

A porção externa dos órgãos genitais femininos é denominada vulva². Localizada no triângulo perineal, a vulva delimita-se anteriormente pelo monte pubiano, posteriormente pelo períneo, lateralmente pelas pregas inguinais e medialmente pelo anel himenal. Esta é uma complexa e específica área topográfica da pele e é composta por várias estruturas anatômicas (GUERRA; CARRILLO; RODRÍGUEZ, 2006; HAEFNER, 2008; BARCHINO-ORTIZL; SUÁREZ-FERNÁNDEZ; LÁZARO-OCHAITA, 2012).

A vulva é a interface de conexão do ambiente exterior ao canal vaginal o qual está conectado ao endocérvice, ao útero e às trompas de Falópio. Este canal possibilita a migração do feto maduro e o fluxo menstrual para o exterior, e o movimento dos espermatozoides para o interior. Esta exposição do trato genital feminino para o ambiente externo faz com que esta área seja suscetível a uma ampla gama de doenças que podem, inclusive, comprometer as funções reprodutoras (WITKIN et al., 2007).

Um dos mecanismos de defesa mais importantes para a prevenção de infecções nesta área é a composição da microbiota vulvovaginal (WITKIN et al., 2007). A microbiota vulvar é menos estudada que a vaginal, porém sabe-se que as espécies predominantes na vagina também estão presentes na vulva, principalmente nos lábios menores. Por sua vez, os micro-organismos nos lábios maiores assemelham-se aos encontrados na pele da virilha (BELLA et al., 2009).

Vários fatores podem promover o aumento da instabilidade do ecossistema vulvovaginal como níveis hormonais, pH³, quantidade de glicogênio das células

² No latim medieval, *volva* (ou *vulva*) referia-se ao útero e aos órgãos genitais femininos. Este termo, provavelmente, é derivado de *volvere*, do latim antigo que quer dizer *cobrir*, *envolver*, e também, *revirar a mente* (ETYMONLINE, 2015).

³ Em organismos saudáveis, os lactobacilos produzem ácido láctico suficiente para manter o pH vaginal ligeiramente ácido, geralmente entre 3,4 e 4,5 (STEWART-TULL, 1964; BORIS; BARBES, 2000; BOSKEY et al., 2001; RUNEMAN, 2008). As alterações de pH podem ocorrer de acordo com a idade, as fases do ciclo menstrual, infecções e, até mesmo, a excitação sexual. O fluxo menstrual, as secreções cervical e uterina e o sêmen podem atuar como agentes alcalinizantes e aumentar o pH vaginal. Essas variações no pH, tanto em relação à elevação quanto à diminuição, são um dos fatores que favorecem a infecção e a colonização vaginais (DESPHANDE; RHODES; DANISH, 1992, RICHARDSON; ILLUM, 1992; WITKIN et al., 2007).

epiteliais, defeitos imunológicos, idade, atividade sexual, bem como tipo de roupa íntima e práticas de higiene (BORIS; BARBES, 2000; VALENTA, 2005; WITKIN et al., 2007; RAMPERSAUD et al., 2012; CARAMELLA et al., 2015). Ainda não há ampla investigação sobre a influência da higiene pessoal, especialmente a íntima. Mas, de acordo com as pesquisas realizadas por Cruz (2009) e Pontes e colaboradores (2014), a higienização da área genital é uma grande preocupação entre as mulheres, pois esta prática pode prevenir o surgimento de corrimento, odores desagradáveis e infecções.

Diversos produtos são utilizados para a higienização da região íntima feminina e, por conseguinte, entram em contato com a mucosa genital. De maneira geral, esses produtos trazem benefícios reais ou percebidos para as mulheres que os utilizam. Entretanto, alguns desses produtos têm em sua composição substâncias, tais como parabenos, dioxinas e furanos, cujos efeitos no organismo ainda são questionados e estudados pelos pesquisadores da área (FARAGE; LENNON, 2006; SCRANTON, 2013).

Sendo assim, composições à base de materiais naturais vêm sendo utilizadas em produtos cosméticos e de higiene. Pode-se dizer que esta prática é um retorno ao princípio da medicina, uma vez que antigas civilizações – como a chinesa e a indiana – faziam (e ainda fazem) uso de plantas medicinais para aliviar e tratar as enfermidades.

Conforme as características físico-químicas das substâncias provenientes de plantas, a aplicação em produtos para higiene íntima, tais como protetores diários, sabonetes e lenços umedecidos, somente é viável a partir da elaboração de uma dispersão aquosa. Certos componentes, a exemplo das manteigas e dos óleos essenciais, têm como característica a lipofilicidade ou hidrofobicidade. Desta forma, a nanotecnologia apresenta-se como uma alternativa para a incorporação de substâncias lipofílicas em meio aquoso. As nanopartículas permitem encapsular ou compartimentalizar substâncias lipofílicas em sua estrutura, produzindo dispersões cuja fase externa é aquosa, o que torna estes sistemas bastante úteis para a veiculação em água de substâncias hidrofóbicas.

A nanociência tem influenciado diversas áreas tecnológicas, incluindo a de biotecnologia, de energia, de materiais, de eletrônicos, dentre outras (SEAL; KARN,

2014). A nanotecnologia não é mais uma tecnologia emergente: na literatura, mais de 260 mil artigos científicos acerca do tema foram publicados nos últimos 10 anos⁴.

No que tange à pesquisa de carreadores lipídicos nanoestruturados, especificamente, houve um salto do número de publicações nos últimos 20 anos. No início dos anos 1990 havia três grupos europeus, enquanto que hoje mais de 20 grupos de pesquisa estão trabalhando com o tema. Esses dados demonstram o crescente interesse do estudo sobre os carreadores lipídicos nanoestruturados. Na última década, essas nanoestruturas têm sido intensivamente estudadas para aplicação cutânea e na mucosa, tanto em produtos farmacêuticos como em cosméticos (PARDEIKE; HOMMOSS; MÜLLER, 2009). Assim, o presente trabalho pode contribuir para os avanços acerca da produção e utilização dos carreadores lipídicos nanoestruturados.

Além disso, cabe ressaltar que na formulação de carreadores lipídicos nanoestruturados não é necessário empregar solventes orgânicos. Não obstante, para a obtenção dessas nanoestruturas já existem métodos, como a homogeneização a alta pressão, que permitem a produção em larga escala.

Posto esse cenário, pergunta-se: é possível obter uma formulação baseada em nanotecnologia cujos principais componentes ativos utilizados sejam de origem natural e que seja capaz de neutralizar possíveis odores, combater a proliferação de fungos e bactérias, e hidratar a pele da região íntima feminina?

A presente Tese de Doutorado trabalha com a hipótese de que substâncias de origem natural possuem propriedades benéficas à saúde humana e já são amplamente utilizadas em produtos cosméticos. Acredita-se que com o uso de recursos baseados em nanotecnologia seja viável desenvolver uma formulação passível de ser utilizada em diferentes produtos para a higiene íntima feminina.

⁴ O dado apresentado foi obtido a partir da busca por "Journals" publicados desde 2007 na plataforma *online* ScienceDirect. Foi utilizada a palavra-chave "nano*" nos campos "Abstract, Title and Keywords". A busca foi efetuada em 08/03/2017.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver um insumo cosmético de base nanotecnológica contendo substâncias de origem vegetal cujas propriedades auxiliem na manutenção do equilíbrio da microbiota vulvovaginal e que seja passível de ser utilizada em produtos para a higiene íntima, tais como absorvente, sabonete e lenço umedecido.

1.1.2 Objetivos Específicos

- a. Desenvolver uma dispersão aquosa de carreadores lipídicos nanoestruturados contendo óleo essencial de melaleuca, alfa-bisabolol, ácido cítrico, resveratrol e óleo de semente de uva como componentes ativos;
- b. Caracterizar a formulação obtida quanto ao valor do pH, distribuição e diâmetro de partícula, potencial zeta e teor de resveratrol;
- c. Verificar a estabilidade físico-química da dispersão aquosa de carreadores lipídicos nanoestruturados proposta;
- d. Avaliar a segurança da formulação por meio de ensaios de lavabilidade, permeação, penetração e HET-CAM;
- e. Desenvolver um sabonete para uso íntimo feminino com base na formulação obtida;
- f. Realizar análise de similares em protetores diários disponíveis no mercado para estabelecer parâmetros de avaliação do tecido não-tecido.
- g. Caracterizar o tecido não-tecido quanto ao processo de fabricação, à composição química e à capilaridade;

- h. Testar diferentes métodos de impregnação da dispersão aquosa de carreadores lipídicos nanoestruturados em tecido não-tecido;
- i. Propor diretrizes para fabricação de lenços umedecidos para uso íntimo feminino contendo a dispersão aquosa de nanopartículas lipídicas.

Cabe ressaltar que todas as avaliações necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa foram realizadas *in vitro*, dispensando a utilização de seres vivos.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Farmacotécnica 405 e no Laboratório de Design e Seleção de Materiais (LdSM), ambos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Este capítulo aborda os principais temas envolvidos nesta pesquisa, iniciando por uma breve revisão sobre os produtos para a higiene íntima feminina (item 2.1), tais como os absorventes higiênicos, protetores diários, lenços umedecidos e sabonetes. No item 2.2, discorre-se acerca das principais substâncias utilizadas para a higiene íntima feminina. Ambas as seções incluem uma revisão de patentes depositadas sobre o assunto e têm como intuito identificar as principais propriedades almejadas pelos pesquisadores da área. Adiante, no item 2.3, são revisados os métodos de obtenção de nanopartículas lipídicas como sistemas de liberação de substâncias. Cabe ressaltar, que os três itens supracitados também trazem informações sobre substâncias de origem vegetal passíveis de serem aplicadas na formulação proposta no presente trabalho. O item 2.5 tem como objetivo a elucidação acerca dos métodos utilizados para o controle de qualidade de cosméticos e sistemas nanoestruturados, como a avaliação físico-química, interação com a mucosa vaginal e potencial de irritação da substância associada à formulação. Por fim, são revisados os métodos de impregnação de nanopartículas em têxteis.

2.1 PRODUTOS PARA HIGIENE ÍNTIMA FEMININA

As atividades de higiene pessoal podem ser definidas como o cuidado do corpo no que tange à eliminação de resíduos. No caso das mulheres, essas práticas incluem o banho e secagem de todo o corpo, a higienização após a micção/defecção e da área geniturinária durante a menstruação (CZERWINSKI, 1991).

O estudo realizado por Czerwinski (1991) com mulheres americanas, aponta que a maior parte delas faz uso de produtos específicos para a higienização genital, bem como absorventes higiênicos, protetores diários e lenços umedecidos. Além dos produtos descritos, ainda pode-se citar o sabonete íntimo. De acordo com Farage; Lennon; Ajayi (2011), todos esses produtos podem ser benéficos para a saúde das mulheres que os usam.

2.1.1 Absorventes higiênicos e protetores diários

Absorventes higiênicos vêm sendo utilizados há milhares de anos, na forma de material macio que, aplicado contra a vulva, absorve as secreções e o sangue. Hipócrates, que viveu entre 460 e 370 a.C., citava em seus manuscritos, uma proteção para ser usada intravaginalmente. Durante séculos, os métodos de proteção menstrual não evoluíram: as mulheres utilizavam faixas de tecido que, após o uso, eram lavadas e reutilizadas (INMETRO, 1998).

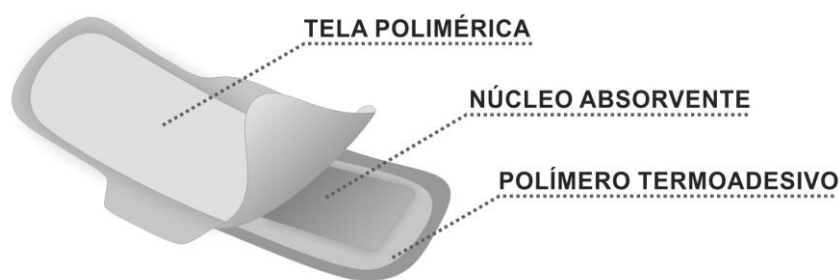
Em 1886, o primeiro absorvente descartável foi criado por Johnson & Johnson, mas não obteve sucesso. Em 1921, a Kimberly-Clark introduziu no mercado a Kotex[®] e a Johnson & Johnson, o Modess[®]. Esses absorventes descartáveis eram mantidos no lugar por pinos ou cintos especiais usados ao redor da cintura. A primeira grande melhoria nos absorventes descartáveis veio cerca de 50 anos após o início de sua comercialização, quando o suporte adesivo foi introduzido (COTTENDEN, 1988; HELLSTROM et al., 1994; BACKER; NORTON, 1996; INMETRO, 1998; MCCLISH et al., 1999; WANG, 2001; GUPTA; SMITH, 2002; SANCHES, 2004; AMARAL et al., 2011; FARAGE; LENNON; AJAYI, 2011).

Com o avanço tecnológico, as indústrias passaram a incorporar polímeros superabsorventes, como a poliacrilamida e o poliacrilato de sódio, a fim de reduzir o volume dos produtos. Esses polímeros são capazes de eliminar o excesso de umidade, absorvendo o líquido e transformando-o em gel nas camadas interiores do absorvente higiênico. O passo seguinte foi o desenvolvimento de produtos mais confortáveis e seguros. Nos anos 1990, foram lançados produtos com abas laterais e formato anatômico (SANCHES, 2004; AMARAL et al., 2011).

Progressivamente, as atividades da mulher moderna levaram-na à utilização dos absorventes higiênicos para o período intermenstrual também. Estima-se que 50% das mulheres na América do Norte e Europa Ocidental fazem uso de protetores diários por serem confortáveis, discretos e descartáveis. Diversos estudos apontam como principais razões para o uso desses produtos a absorção de fluidos corporais: menstruação (no início ou no fim do período, ou, ainda, como segurança extra ao utilizar absorvente interno), secreção vaginal (corrimento fisiológico, excessivo ou após relações sexuais) e urina (THORNBURN, 1997; FARAGE et al., 2007; GIRALDO et al., 2011; PONTES et al., 2014).

Existem, no mercado, inúmeras opções de absorventes higiênicos e protetores diários. O que difere um do outro é a presença ou não de materiais e recursos que conferem a estes produtos os requisitos de qualidade e conforto (SANCHES, 2004). Basicamente, tanto os absorventes higiênicos quanto os protetores diários são compostos por uma capa de tela polimérica que permite a passagem de fluidos orgânicos, um núcleo absorvente e uma capa de polímero adesivo que também serve como apoio estrutural (Figura 1). Geralmente, a tela polimérica é produzida por tecido não-tecido de polipropileno; o núcleo absorvente é constituído por polpa de celulose e/ou poliacrilato de sódio; e a capa de polímero adesivo é composta por resina hidrocarbônica hidrogenada (SANCHES, 2004; AMORIM, 2013).

Figura 1 – Estrutura básica de absorventes higiênicos e protetores diários.



Traduzido de Pohlmann (2016).

De acordo com a portaria nº 1480 (BRASIL, 1991), as matérias-primas presentes nesses produtos devem ser de natureza atóxica e, para confirmação, devem ser submetidos a ensaios de toxicidade. Realizar essa verificação antes de disponibilizar os produtos no mercado é de extrema importância, visto que muitas mulheres não utilizam produtos de absorção somente no período menstrual, mas também durante todos os outros dias do mês.

Mesmo que um grande número de mulheres sinta necessidade do uso de protetores diários no período intermenstrual, ainda existe um consenso de que estes produtos podem interferir no ecossistema vulvovaginal. Muitos médicos alegam que a capa de polímero adesivo impede a areação adequada, eleva a temperatura, altera o pH, levando a maior ocorrência de vulvovaginites e outras infecções (FARAGE et al., 2007; AMARAL et al., 2011; GIRALDO et al., 2011; PONTES et al., 2014).

O estudo realizado por Patel e colaboradores (2004), analisou fatores de risco para recorrência de candidíase vulvovaginal (CVV). De acordo com os autores, fatores comportamentais, como o uso de protetores diários, foram associados positivamente com episódios de CVV. Entretanto, novas pesquisas têm sido realizadas e revelam que o uso contínuo de protetores diários não propicia o aumento de recorrências de CVV, vaginose bacteriana, irritação vulvovaginal ou inflamação vulvovaginal (FARAGE et al., 2007; AMARAL et al., 2011; GIRALDO et al., 2011; PONTES et al., 2014). Inclusive, nos resultados apontados por Amaral e colaboradores (2011), a maioria das mulheres afirmou que se sentiram mais confiantes, seguras e limpas.

Runeman e colaboradores (2003) relacionaram o microclima (temperatura, umidade e pH) da região genital de mulheres que utilizaram protetores diários com capa polimérica convencional e com capa polimérica respirável. Os resultados indicaram que o polímero convencional altera o microclima da região genital feminina, mas o polímero respirável consegue manter o microclima em um nível inalterado. Nesse trabalho, os autores, também, citam que a partir de materiais desenvolvidos para roupas esportivas, foi possível inovar no setor dos produtos higiênicos com a incorporação desses polímeros respiráveis em absorventes higiênicos, protetores diários e fraldas descartáveis (RUNEMAN et al., 2003). Assim como este, existe uma série de inovações feitas ao longo do tempo cujo intuito é a melhoria dos produtos absorventes para higiene pessoal.

A Tabela 1 apresenta o levantamento de patentes que versam sobre o aprimoramento de absorventes higiênicos. Foram encontradas 29 patentes registradas ao longo de 54 anos. Conforme pode ser observado, 17 propõem a utilização de substâncias para neutralizar odores, 9 indicam ação bactericida e 3, fungicida. Entretanto, esses aspectos estão intimamente ligados, pois o mau cheiro da região íntima feminina ocorre devido a um desequilíbrio na microflora vaginal (CRUZ, 2009; PONTES et al., 2014). Quanto à absorção de fluidos, 5 patentes estão relacionadas com a melhoria deste quesito, sendo que 4 incorporam substâncias hidrófilas, tais como partículas gelificantes. De todas as patentes citadas, 7 utilizam extratos naturais como agente ativo para alcançar os objetivos a que se propõem. Ainda, vale ressaltar que 7 utilizam substâncias microencapsuladas e nenhuma utiliza nanotecnologia como técnica principal de incorporação de materiais.

Tabela 1 – Inovações nos absorventes higiênicos.

Depositante, ano	Propriedades	Inovação	Composição
THOMSON, 1960	Desodorante.	Aplicação de cápsulas contendo óleos essenciais entre as camadas internas do absorvente.	Não fornecida.
CHARLE et al., 1972	Bactericida; fungicida.	Impregnação de microcápsulas solúveis com os fluidos corporais no núcleo do absorvente.	Salicilanilida; hexaclorofeno.
MONEY, 1973	Bactericida; fungicida.	Aplicação de substância em folha perfurada utilizada para recobrir o núcleo do absorvente.	Hexaclorofeno
YAMAUCHI, 1974	Desodorante.	Desenvolvimento de um absorvente higiênico com pelo menos uma camada de fibras na qual é aplicado um pó desodorante na forma de sal de ácido.	O desodorante é uma resina porosa produzida a partir de uma amina aromática, com ou sem um fenol.
PERSONAL PROD CO, 1980	Desodorante.	Aplicação de microcápsulas na superfície adesiva do absorvente higiênico.	Não fornecida.
KIMBERLY-CLARK CORPORATION, 1985	Desodorante.	Incorporação de camada neutralizadora de odores no interior do absorvente higiênico.	Sugestões: carvão ativado; bicarbonato de sódio.
UNITIKA LTD, 1993A	Desodorante.	Incorporação de desodorante em roupa por pó fino de celulose ou microcápsulas de resina sintética.	Sugestões: óleo canforado; óleo de eucalipto; complexo metálico ou ferro, cobalto, manganês.
UNITIKA LTD, 1993B	Perfume.	Incorporação de aroma em roupa por pó fino de celulose ou microcápsulas de resina sintética.	Sugestões: óleo de limão; rosa, etc.
P&G, 1997A	Desodorante.	Aplicação de microcápsulas na superfície adesiva do absorvente higiênico.	Sugestão: material zeólito com razão silicato/aluminato intermediária.
P&G, 1997B	Perfume.	Aplicação de microcápsulas na superfície adesiva do absorvente higiênico.	Não fornecida.
GRAY; MINOGUCHI; P&G, 2000	Cuidados com a pele.	Artigo absorvente com composição para cuidados com a pele.	Vaselina sólida e álcool berrênico
PROCTER & GAMBLE CO, 2000A	Desodorante.	Artigo absorvente com, pelo menos, um agente oxidante com redução de potencial específico juntamente com agente hemolítico.	Ácido épsilon-ftalimido peroxi hexanóico e ácido etilenodiamino tetra-acético.
PROCTER & GAMBLE CO, 2000B	Desodorante.	Artigo absorvente com, pelo menos, um agente oxidante com, pelo menos, um agente quelante.	Ácido épsilon-ftalimido peroxi hexanóico e ácido etilenodiamino tetra-acético.
PROCTER & GAMBLE CO, 2000C	Desodorante.	Artigo absorvente com peroxiácido.	Ácido épsilon-ftalimido peroxi hexanóico
PROCTER & GAMBLE CO, 2000D	Desodorante.	Artigo absorvente com agente(s) oxidante solúvel em água e emulsificante.	Sugestões: perissulfato de potássio ou peróxido de ureia.
KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE INC, 2000A	Absorção.	Preparação de composto com material superabsorvente com material de revestimento por introdução das partículas em fluxo de gás.	Polpa de bétula; sílica granulada; ácido acrílico.

Tabela 1 – Cont.

KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE INC, 2000B	Absorção.	Material superabsorvente contendo compósito com partículas gelificantes rígidas.	Celulose microcristalina e poliacrilato superabsorvente.
PROCTER & GAMBLE CO, 2001	Bactericida.	Utilização de ácido láctico para a produção de micro-organismos.	Não fornecida.
PROCTER & GAMBLE CO et al., 2001A	Desodorante.	Utilização de ácido láctico para a produção de micro-organismos.	Não fornecida.
PROCTER & GAMBLE CO, 2002	Desodorante; absorção.	Artigo absorvente com quitosana e gel iônico absorvente.	Pirrolidona-carboxilato de quitosana e poliacrilato de sódio.
PROCTER & GAMBLE CO et al, 2001B	Desodorante; absorção.	Artigo absorvente com polissacarídeo catiônico e material para tamponamento do pH ácido.	Pirrolidona-carboxilato de quitosana e solução de ácido cítrico e hidróxido de sódio.
YI CHIA BAO BIOCHEMICAL TECHNOLOGY CO, 2004	Bacter.; desod.; analgésico; antiprurítico; calmante.	Substância aplicada entre a tela polimérica e o núcleo absorvente.	Sugestão: Extrato de melaleuca, extrato de anis, cânfora, actinolita, etc.
ABIGO MEDICAL AB et al., 2009	Fungicida.	Preparação de artigo absorvente com camada cátion ativa.	SORBACT® (cloreto de alquil dimetil benzil amônio)
P&G, 2012	Refrescante.	Substância refrescante aplicada em artigo absorvente.	Sugestão: acetal, carboxamida, derivados de ciclohexil, derivados de ciclohexanol, derivados de mentol, cânfora, salicilato de mitila, óleo de melaleuca e/ou óleo de eucalipto.
河南舒莱卫生用品有限公司, 2013	Bactericida; desodorante.	Método de fabricação de absorvente higiênico com propriedade de remoção de odores peculiares.	Núcleo absorvente: fibra de cânhamo; polpa de madeira fofa. Tela polimérica: prata nanométrica; microcápsulas com óleo essencial de rosa, óleo de camomila e extrato de chá verde.
3SM KOREA CO LTD, 2014	Bactericida.	Produção de absorvente higiênico com propriedade bactericida.	Melaleuca; alumínio; cloreto de sódio.
MICROCAPSULES TECHNOLOGIES, 2014	Bactericida; anti-inflamatório.	Desenvolvimento de microcápsulas para aplicação em artigo absorvente.	Não fornecida.
P&G, 2014	Bactericida; desodorante; tratamento de eritema.	Método para fabricação de absorvente com substância de tratamento.	Hexamidina, óxido de zinco e niamicina.
SCA HYGIENE PROD AB, 2014	Bacter.; desod.; absorç.; reduz irritação; hidrat.	Aplicação de substância hidrofílica e umectante em produto de higiene.	Sugestões: alantoína e/ou D-pantenol; aloe vera, camomila, vitamina E, aminoácidos da seda; carvão ativado; zeólito; ácido cítrico; sílica e argilas.

Os dados contidos nesta tabela foram obtidos a partir da busca nos bancos Google Patents Search e Derwent Innovations IndexSM. As palavras-chaves utilizadas foram: sanitary napkin, panty liner, vulva, care, feminine intimate hygiene, micro*, nano*. A busca foi efetuada no período entre 30/12/2014 e 02/03/2015. Fonte: do autor.

2.1.2 Lenços umedecidos

Estudos acerca dos lenços umedecidos são escassos na literatura. Acredita-se que esse fato está relacionado com a recente inserção desses produtos no mercado. Basicamente, podem ser encontrados lenços umedecidos direcionados para o público infantil e, especificamente, para as mulheres.

Esses produtos são produzidos em duas partes. Uma delas é composta pelo tecido não-tecido e a outra, por uma solução de limpeza que mantém o lenço umedecido. As formulações utilizadas para umedecer o lenço podem variar, mas consistem principalmente de água com surfactantes suaves, conservantes, agentes antimicrobianos e fragrâncias. Em algumas marcas é possível encontrar, também, agentes de tratamento de pele (FARAGE; LENNON; AJAYI, 2011).

Ehretsmann; Schaefer; Adam (2001) realizaram estudos clínicos para verificar a tolerabilidade cutânea de lenços umedecidos para bebês. Os resultados revelaram que os produtos ensaiados provocaram pouca ou nenhuma reação alérgica nos bebês, mesmo aqueles com pele sensível. Recentemente, Bartels e colaboradores (2014) investigaram os efeitos do uso contínuo de lenços umedecidos em bebês. Foram avaliados a perda de água transepidermica, a hidratação cutânea, o pH da pele, a colonização microbiológica e a ocorrência de dermatite. A hidratação diminuiu, o pH aumentou e não houve correlação com a ocorrência de dermatite.

Farage (2000) desenvolveu uma metodologia para avaliar os efeitos irritantes especificamente de lenços umedecidos os quais envolvem o uso de longo prazo e a exposição exagerada. Esse estudo foi aplicado à utilização de lenços umedecidos por mulheres. A segurança e os benefícios do método desenvolvido foram demonstrados e revisados (FARAGE et al., 2008; FARAGE; MILLER; LEDGER, 2010).

A quantidade restrita de estudos acerca da utilização de lenços umedecidos específicos para a região íntima feminina reflete no número de patentes registradas sobre este tema (Tabela 2). Dentre as inovações citadas, 3 sugerem a aplicação de substâncias em lenços umedecidos e 1 propõe um lenço (embalado individualmente) acoplado no absorvente íntimo. Nesse último caso, a embalagem do lenço é colada na embalagem do absorvente.

Tabela 2 – Inovações em lenços umedecidos para mulheres.

Depositante, ano	Propriedades	Inovação	Composição
CORD CONTRACT RESEARCH UND DEVELOPMENT GMBH, 2000	Bactericida; desodorante; limpeza; cuidado da pele.	Aplicação de substâncias.	Digluconato de clorexidina; D-Panthenol.
MIBELLE AG, 2008	Antiprurítico; bactericida.	Aplicação de substâncias.	Nanopartículas de prata; ácido láurico; superóxido dismutase; camomila; extrato de <i>Gleditsia sinensis</i> ; propilenoglicol; isotiazolinona.
BCLEAN PROJECTS LTD, 2011	Bactericida, fungicida, antiviral, anti-inflamatório e emoliente.	Desenvolvimento de formulação e de dispositivo para acondicionar lenços umedecidos.	Sugestão (% p/v): ciclopentasiloxane (70-97,9); dimeticona (1-25); dimeticonol (1-25); óleo de melaleuca (0,1-5).
LAM H, 2013	Limpeza.	União de lenço umedecido em absorvente higiênico.	Tecido não-tecido.
SHENZHEN YANQIAN TECHNOLOGY CO LTD, 2013	Esterilizante; hidratante.	Aplicação de substâncias.	Benzoato de sódio; ácido láctico 80%; Softigen 767; glicerol; D-Pantenol 75%; Femitim; CMGlucan P; extrato de <i>Opuntia</i> .

Os dados contidos nesta tabela foram obtidos a partir da busca nos bancos Google Patents Search e Derwent Innovations IndexSM. As palavras-chaves utilizadas foram: wet wipe, vulva, care, feminine intimate hygiene, micro*, nano*. A busca foi efetuada no período entre 30/12/2014 e 01/05/2015.

Fonte: do autor.

A patente de Lam H (2013) não especifica as substâncias empregadas sobre o lenço umedecido apesar de indicar que se trata de um produto com pH balanceado e sem adição de álcool e fragrâncias. As funcionalidades são variadas, mas cabe destacar a ação bactericida/esterilizante que está presente em todos os trabalhos que utilizam formulações sobre os lenços. Duas patentes fazem uso de D-pantenol como agente hidratante e uma delas utiliza extrato de camomila (alfa-bisabolol) e de *Gleditsia sinensis* como calmante e o ácido láurico⁵ como bactericida e anti-inflamatório.

2.1.3 Sabonetes íntimos

No mercado brasileiro, os sabonetes em barra ocupam papel de destaque dentre os produtos de higiene pessoal devido a sua plasticidade, espuma cremosa, odor agradável e menor velocidade de perda de peso na estocagem. Entretanto, profissionais da área da saúde questionam o uso rotineiro desses produtos na

⁵ O ácido láurico é o principal componente do óleo de coco e do óleo da semente de palma.

genitália feminina. Devido ao pH alcalino, podem desencadear dermatite na região íntima e favorecer diversos processos infecciosos. Outros fatores negativos são a probabilidade do uso compartilhado, aumentando o risco de contaminação, o acúmulo de pó e, diversas vezes, são demasiadamente perfumados (FRIEDMAN; WOLF, 1996; BELLA et al., 2009; CRUZ, 2009)

Por sua vez, os sabonetes específicos para a região íntima feminina, usualmente em estado líquido, são desenvolvidos com o pH ácido. Essa característica tem ação benéfica na manutenção do pH vulvovaginal. O uso destes produtos é exclusivamente para a área externa, pois o uso interno (na forma de ducha vaginal) pode interferir na flora fisiológica. No entanto, eles são contraindicados como tratamento de infecções ou inflamações genitais e em crianças pré-púberes, uma vez que estas não possuem lactobacilos em grande quantidade e o pH vaginal é neutro (FRIEDMAN; WOLF, 1996; ROY et al., 2004).

Assim como os demais produtos (Tabela 1 e Tabela 2), os sabonetes (Tabela 3) têm como principal característica a ação bactericida. No combate contra micro-organismos prejudiciais à saúde, as patentes depositadas por Rottapharm S.P.A. (2010), Henkel&Co Ag Kgaa (2012) e Fitolon-Nauka Llc; Fitolon-Nauka Co Ltd (2013) incorporaram fitoterápicos como a calêndula (*Calendula officinalis*), a sálvia (*Salvia officinalis*), a aveia-comum (*Avena sativa*), o óleo de rícino e extrato de conífera. Outros agentes provenientes de plantas também são utilizados. Dentre eles, o ácido cítrico, como regulador de pH; e como hidratante, o óleo de amêndoas, a proteína do trigo hidrolisada, glicerídeos de coco, a manteiga de karité (*Butyrospermum parkii*) e o extrato de raiz de grama cogon (*Imperata cylindrica*).

Uma inovação interessante e diferente de todas as patentes citadas na presente pesquisa é a proposta desenvolvida por Cruz (2009). O autor do estudo ressalta que o pH vulvovaginal varia durante o ciclo menstrual. Neste sentido, foi desenvolvido um kit para higiene íntima feminina que compõe sabonetes com formulações diferentes. A primeira formulação tem pH entre 3,6 e 4 e é indicada para ser utilizada durante o período menstrual. A segunda formulação tem pH entre 4,3 e 4,7 para ser utilizada nos demais dias do ciclo. A única alteração feita nas formulações propostas é a quantidade de ácido cítrico, que atua como regulador de pH. Para o período menstrual é indicada uma concentração que varia entre 1,5 e 2% e para os demais dias, 2,5 e 3,2%.

Tabela 3 – Inovações em sabonetes íntimos femininos.

Depositante, ano	Propriedades	Inovação	Composição
KLEHR N W, 1991	Regulador de pH.	Utilização de substância para higienização da região íntima feminina.	Proteína do leite.
MCNEIL-PPC INC; JOHNSON & JOHNSON, 1992	Bactericida.	Utilização de substância para higienização da região íntima feminina com inibidor de estafilococos e estreptococos.	Sugestão: monoéster de um álcool poliídrico alifático e ácido graxo e/ou um diéster.
SUSAN KAY BROWNSKROBOT; MARY R. IRVING; MCNEILPPC, INC., 2007	Bactericida.	Composição para produtos de higiene íntima.	Sugestão: monoéster de um álcool poliídrico alifático e ácido graxo e/ou um diéster.
CRUZ, 2009	Regulador do pH; redução da irritabilidade.	Desenvolvimento de kit para higienização da região íntima feminina.	Ácido cítrico; hidróxido de sódio; óleo de amêndoas etoxilado; glicerina.
DIVERDRUGS SL et al., 2009	Bactericida; limpeza.	Obtenção de derivados peptídicos para uso em tratamento, cuidado ou limpeza da mucosa.	Cetearyl etilhexanoato; estearato de glicerila; álcool cetílico; butilenoglicol; glicerina; propilenoglicol; palmitato de etilexila; trometamina; Palm-L-Arg-Ahx-L-Ala-NH ₂
DIVERDRUGS SL; PUIG BEAUTY & FASHION GROUP S.L.; LIPOTEC, S.A., 2010	Bactericida; limpeza.	Obtenção de derivados peptídicos para uso em tratamento, cuidado ou limpeza da mucosa.	Cetearyl etilhexanoato; estearato de glicerila; álcool cetílico; butilenoglicol; glicerina; propilenoglicol; palmitato de etilexila; trometamina; Palm-L-Arg-Ahx-L-Ala-NH ₂
ROTTAPHARM S.P.A., 2010	Limpeza; bactericida; hidratante; emoliente; lenitivo; antioxidante; desodorante.	Desenvolvimento de composição para higiene íntima.	Ácido láctico; proteína do leite; extrato hidroalcoólico da flor de <i>Calendula officinalis</i> ; extrato hidroalcoólico de <i>Salvia officinalis</i> ; goma xantana; oleato de glicerila; decil glicosídeo; isoestearato de glicerilo; diestearato glicol; extrato de <i>Avena sativa</i> ; proteína hidrolisada de aveia; palmitoil potássio proteína de trigo hidrolisada; palmitoil potássio proteína de aveia hidrolisada.
HENKEL&CO AG KGAA, 2012	Limpeza.	Desenvolvimento de composição para higiene íntima.	Glicerol; glicérides de coco; propilenoglicol dicaprilato; manteiga de <i>Butyrospermum parkii</i> ; acetato de tocoferol; óleo de ricino hidrogenado; ácido etilenodiamino tetra-acético; extrato de raiz de <i>Imperata cylindrica</i> ; triglicérides de ácido cáprico-caprílico.
FITOLON-NAUKA LLC; FITOLON-NAUKA CO LTD, 2013	Prevenção de doenças ginecológicas	Utilização de agente natural para higienização da região íntima feminina.	Extrato natural de conífera.
LABORATOIRES EXPANSCIENCE, 2014	Anti-inflamatório.	Desenvolvimento de composição para higiene íntima.	Extrato de tremoço (0,1-10 p/p).

Os dados contidos nesta tabela foram obtidos a partir da busca nos bancos Google Patents Search e Derwent Innovations IndexSM. As palavras-chaves utilizadas foram: soap, vagina, vulva, care, feminine intimate hygiene, micro*, nano*. A busca foi efetuada no período entre 30/12/2014 e 06/03/2015. Fonte: do autor.

2.2 SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS PARA A HIGIENE ÍNTIMA FEMININA

A genitália feminina é amplamente vascularizada e capaz de produzir muco para a proteção da região contra fungos e bactérias. Essa propriedade de "autolimpeza" dispensa a utilização de substâncias químicas para higienização íntima feminina. Ainda, a alta permeabilidade do epitélio vaginal faz com que a vagina e a vulva absorvam rapidamente essas substâncias sem metabolizá-las. (COTTRELL, 2003; FARAGE; MAIBACH, 2004; KUMAMOTO; IWASAKI, 2012; KEIR; WISE; KREBS, 2015).

De acordo com estudo realizado pela *Euromonitor International* (2013), somente nos Estados Unidos da América, mais de dois bilhões de dólares são investidos em produtos para higiene a cada ano. Sendo assim, a investigação acerca da influência desses produtos sobre a saúde da mulher torna-se imprescindível. A organização americana *Women's Voices for the Earth* publicou um relatório no quais certos componentes são apontados como desreguladores endócrinos (EDCs), alergênicos e cancerígenos (SCRANTON, 2013):

- Cloro: utilizado para o branqueamento do algodão de produtos para menstruação (absorventes internos e externos);
- Dioxinas e furanos: subprodutos do cloro. São carcinogêneos e podem causar problemas hormonais e reprodutivos, além de afetarem o sistema imunológico;
- Resíduos de pesticidas: cancerígenos e EDCs. A maioria dos algodões utilizados em absorventes é cultivada convencionalmente, ou seja, tratada com pesticidas. A avaliação de alguns absorventes internos detectou a presença de pesticidas, como procimidona, mecarbame e fensulfotio;
- Fragrâncias: aplicadas em duchas, lenços umedecidos, desodorantes e absorventes. Podem conter produtos químicos cancerígenos, irritantes, alergênicos e EDCs;
- Parabenos: são irritantes, alergênicos e EDCs. São utilizados como conservantes de cremes antiprurido, lenços umedecidos e duchas.

Posto isto, foram revisadas patentes sobre o desenvolvimento de composição para cuidados gerais da região íntima feminina (Tabela 4). Esse levantamento foi de fundamental importância para determinar uma composição adequada levando em consideração os prejuízos causados por certas substâncias.

Dentre as propriedades das formulações muitas prometem ação fungicida e bactericida. Como composto ativo para alcançar essas propriedades, são utilizados, por exemplo, selênio, oligofrutoses, lactato de quitosana e nanopartículas de prata (VOLKMANN, 2005; KRUSZEWSKA, 2013).

Para hidratação, proteção, revitalização e antioxidação da pele, alguns autores sugerem a utilização de ácidos, tais como o ácido dicarboxílico, o ácido graxo insaturado e o óleo de rícino hidrogenado (IST FARMACOLOGICO SERONO SPA, 1983; MARFARMA HOLDING S.P.A., 2003; KRUSZEWSKA, 2013); álcoois, bem como o cocoato de glicerila PEG-7, glicerina, propilenoglicol (MARFARMA HOLDING S.P.A., 2003; BCLEAN PROJECTS LTD, 2011); aldohexose, como a glucose (IST FARMACOLOGICO SERONO SPA, 1983; 周世兰, 2004); amida, como a ureia (周世兰, 2004); flavonoide, como os isoflavonoides de soja (MARFARMA HOLDING S.P.A., 2003); e aminoácidos, tais como a metionina e a adenosilmetionina (SAUERMANN G, 2008).

As vitaminas também são amplamente empregadas para obtenção das propriedades citadas acima, como as vitaminas A ou acetato de retinol (VOLKMANN, 2005), D (KRUSZEWSKA, 2013), E ou D-alfa tocoferol (VOLKMANN, 2005; KRUSZEWSKA, 2013) e as do complexo B, tais como as flavinas, 5,6-dimetilbenzimidazol, biotina, ácido fólico e ácido pantotênico (VOLKMANN, 2005; SAUERMANN G, 2008). O ácido pantotênico (vitamina B9) também atua como cicatrizante.

Como regulador de pH, são utilizados o ácido fosfórico e o ácido láctico (IST FARMACOLOGICO SERONO SPA, 1983; 周世兰, 2004; VELLEJA RES SRL, 2009A; VELLEJA RES SRL, 2009B; SANOFI AVENTIS FARMACÊUTICA LTDA, 2014). Para estimular o crescimento da flora saprófita, é utilizado um suplemento probiótico à base de *Lactobacillus bifidus* (VOLKMANN, 2005).

Tabela 4 – Inovações feitas em substâncias para cuidados gerais da região íntima feminina.

Depositante, ano	Propriedades	Inovação	Composição
IST FARMACOLOGICO SERONO SPA, 1983	Antisséptico.	Desenvolvimento de composição para higiene íntima feminina.	Sugestão: ácido láctico; glucose; ácido graxo insaturado.
周世兰, 2004	Regulador de pH; hidratante.	Desenvolvimento de composição para higiene íntima feminina.	Ácido láctico; glicerol; ureia; glucose.
MARFARMA HOLDING S.P.A., 2003	Anti-inflamatório; bactericida; revitalizante; antioxidante.	Desenvolvimento de composição com ingredientes ativos de origem vegetal para higiene íntima feminina útil para o tratamento de secura vaginal e vaginite atrófica durante a menopausa.	Extrato glicólico de <i>Mimosa tenuiflora</i> ; isoflavonoides de soja; cocoato de glicerila PEG-7; propilenoglicol; óleo de rícino hidrogenado; metilcloroisotiazolinona e metilisotiazolinona.
VOLKMANN, 2005	Bactericida; antiviral; fungicida.	Desenvolvimento de composição para higiene íntima feminina.	<i>Lactobacillus bifidus</i> ; <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ; acetato de retinol; D-alfa tocoferol; ácido pantotênico; zinco; selênio; óleo de melaleuca; extrato de óleo de flor de camomila; óleo de lavanda; oligofrutoses.
SAUERMAN G, 2008	Prevenção e combate de candidíase.	Desenvolvimento de composição para higiene íntima feminina.	Vitamina B12; betaína; ácido fólico; vitamina B6; colina; óxido de zinco; metionina; adenosilmetionina; cobalto; 5,6-dimetilbenzimidazol; biotina; flavinas.
VELLEJA RES SRL, 2009A	Anti-inflamatório.	Composição vaginal para prevenção de condições inflamatórias da região genital.	Sugestão: extrato de <i>Zanthoxylum bungeanum</i> ; ácido glicirrízico; óleo essencial de <i>Matricaria chamomilla</i> ; óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> ; extrato de <i>Curcuma longa</i> ; ácido láctico ou propiônico.
VELLEJA RES SRL, 2009B	Bactericida, fungicida, antiprotozoário.	Composição tópica para prevenção e tratamento de inflamações e infecções da região genital.	Sugestão: extrato de <i>Zanthoxylum bungeanum</i> ; ácido glicirrízico; óleo essencial de <i>Matricaria chamomilla</i> ; óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> ; extrato de <i>Curcuma longa</i> ; ácido láctico ou propiônico.
SYMRISE AG, 2010	Efeito gelado.	Produção de substância que gera efeito gelado na pele ou mucosa.	Segere-se que um ou mais abrasivos utilizados nesta invenção seja a folha ou o pó da folha de melaleuca.
BCLEAN PROJECTS LTD, 2011	Bactericida; fungicida; antiviral.	Líquido para uso em higiene íntima pessoal.	Sugestão: óleo de melaleuca; glicerina.
KRUSZEWSKA, 2013	Bactericida; antiviral.	Desenvolvimento de composição para higiene íntima feminina por nanotecnologia.	Lactato de quitosana; ácido dicarboxílico; nanopartículas de prata; vitamina D e E.

Tabela 4 – Cont.

JEAN-CHRISTOPHE SERGERE, 2013	Prevenção de infecções no trato urinário, cura ou prevenção de vaginoses.	Divulga métodos e usos relativos ao uso de derivados do óleo de melaleuca.	Sugestão: 1,25% de melaleuca na concentração final.
LIPOTEC SA, 2013	Fungicida; antipruriginoso.	Uso de peptídeos que inibem receptores ativos em formulações para uso cosmético e farmacêutico.	Sugestão: [...] extrato de melaleuca [...]
ELLEN AB, 2014	Manutenção e restauração de barreira protetora hidrolipídica,	Desenvolvimento de composição para higiene íntima feminina.	Sugestão: triglicerídeos de cadeia longa; triglicerídeos de cadeia média.
SANOFI AVENTIS FARMACÊUTICA LTDA, 2014	Regulador de pH; hidratante; estimulador do crescimento da flora saprófita.	Desenvolvimento de composição para higiene íntima feminina.	Lactosoro (pó); Ácido láctico; Alfa glucano; Copolímeros acrilato; Lauril sulfato de sódio; Diestearato glicol; Cocamida MEA; Lauril; Hidroxietilcelulose; Metilparabeno; Perfume; Hidróxido de sódio; Ácido fosfórico.

Os dados contidos nesta tabela foram obtidos a partir da busca nos bancos Google Patents Search e Derwent Innovations IndexSM. As palavras-chaves utilizadas foram: vagina, vulva, care, feminine intimate hygiene, micro*, nano*. A busca foi efetuada no período entre 30/12/2014 e 01/05/2015. Fonte: do autor.

A maioria das patentes descritas na Tabela 4 tem incorporados em suas formulações óleos ou extratos de plantas. As propriedades dessas substâncias abrangem aspectos terapêuticos, como o combate contra fungos, bactérias e vírus, além de ação cicatrizante, anti-inflamatória e desodorante, entre outros.

A *Mimosa tenuiflora* é uma árvore nativa do nordeste brasileiro e do México e tem ação curativa, anti-inflamatória e bactericida (MARTEL-ESTRADA et al., 2015). A *Curcuma longa* é uma planta nativa do sul da Ásia e melhora o sistema imunológico, atuando como bactericida, fungicida e antiviral (SENGUPTA; SHARMA; CHAKRABORTY, 2011). O ácido glicirrízico é um dos principais glicosídeos triterpênicos isolados da *Glycyrrhiza glabra* L. (alcaçuz) e é investigado para utilização em medicamentos como agente antiviral (BALTINA et al., 2015). A lavanda (*Lavandula angustifolia*) possui diversos efeitos terapêuticos bem como antioxidante, antiviral e antibacteriana (HASSIOTIS et al., 2014). O extrato de *Zanthoxylum bungeanum* é amplamente utilizado na medicina tradicional chinesa por sua ação contra enfermidades cutâneas, como eczemas e pruridos (LAN et al., 2014). As atividades farmacológicas da camomila (*Matricaria chamomilla*) abrangem ação antialérgica, antiespasmódica, antibacteriana, antipirética, antiulcerativa e antifúngica (SZOKE et al., 2004; SRIVASTAVA; GUPTA, 2007). Além das espécies citadas, 9 entre as 10 patentes que empregam óleos e/ou extratos de plantas em suas formulações utilizam melaleuca (*Melaleuca alternifolia*). As propriedades desta planta são descritas no item 2.2.1.

Para a preparação das formulações, são necessários outros componentes além dos ativos. Como conservantes, têm sido utilizados o ácido propiônico (VELLEJA RES SRL, 2009A), a metilcloroisotiazolinona, a metilisotiazolinona (MARFARMA HOLDING S.P.A., 2003) e o metilparabeno (SANOFI AVENTIS FARMACÊUTICA LTDA, 2014). A betaína (SAUERMAN G, 2008), a cocamida MEA, o diestearato glicol e o lauril sulfato de sódio (SANOFI AVENTIS FARMACÊUTICA LTDA, 2014) são aplicados como agentes tensoativos. E, finalmente, como espessante, foram incorporados copolímeros acrilato, hidróxido de sódio e hidroxietilcelulose (SANOFI AVENTIS FARMACÊUTICA LTDA, 2014).

Nas últimas décadas, os produtos de higiene e tratamento da região íntima feminina têm sido influenciados pela percepção de que composições à base de materiais naturais são melhores e mais seguros. Tais substâncias tornaram-se

quase essenciais nas formulações de cosméticos e produtos de higiene (BCLEAN PROJECTS LTD, 2011).

Para que uma espécie vegetal apresente alguma propriedade medicinal é necessário que ela tenha em sua composição química uma ou mais substâncias responsáveis pelo efeito medicamentoso. As informações a respeito das classificações destas substâncias são comumente encontradas da seguinte forma: heterosídeos, alcalóides, taninos, óleos essenciais e outros ativos (FONSÊCA, 2005; BORTOLUZZI, 2008). No presente trabalho, os óleos essenciais compõem parte fundamental da formulação proposta e, portanto, dar-se-á enfoque à descrição dessas estruturas.

Os óleos essenciais das plantas são misturas complexas de constituintes voláteis produzidos como metabólitos secundários em plantas que conferem aromas e sabores característicos. A estrutura dos terpenos pode ser dividida em unidades de isopreno, por isso também podem ser conhecidos como isoprenóides. A classificação dos terpenos é feita pelo número de ligações de unidades de isopreno, onde o número de unidades incorporadas em determinado terpenóide hidrocarbônico insaturado serve de base para esta classificação. Os monoterpenos são compostos de duas unidades, tem a fórmula molecular $C_{10}H_{16}$. Os sesquiterpenos contêm três unidades e sua fórmula molecular é $C_{15}H_{24}$ (FAO, 1995; ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997; ASBAHANI et al., 2015).

Na natureza, os óleos essenciais desempenham um papel importante na proteção de plantas como agentes bactericidas, antivirais, antifúngicos, inseticidas e também contra herbívoros, reduzindo seu apetite por essas plantas. Eles também podem atrair alguns insetos para favorecer a dispersão de pólen e sementes, ou repelir outros indesejáveis (BAKKALI et al., 2008). Sendo assim, eles representam uma alternativa natural às substâncias sintéticas utilizadas nas indústrias cosmética, alimentícia e farmacêutica (HAMMER; CARSON, 2011; LANG; BUCHBAUER, 2012).

Embora os óleos essenciais sejam derivados de plantas e apresentem um histórico de uso tradicional, é fundamental considerar a possibilidade de risco à saúde. Cosméticos, perfumes e medicamentos à base de óleos essenciais podem conter quantidades variáveis de ingredientes alergênicos devido à complexidade de sua composição. Desta forma, torna-se imprescindível seguir as orientações

propostas por autoridades regulamentadoras quando se trata do desenvolvimento de produtos para uso dermatológico (LALKO; API, 2006; BAKKALI et al., 2008).

Para a realização deste trabalho, os componentes selecionados devem auxiliar na higiene íntima feminina através do uso de substâncias provenientes de plantas. Para alcançar este objetivo, é fundamental que estes componentes tenham o poder de hidratação, regulação de pH, bactericida e fungicida. Conforme exposto nas patentes revisadas previamente, as substâncias que contemplam esses requisitos são o **óleo essencial de melaleuca**, o **alfa-bisabolol** e o **ácido cítrico**. No intuito de incrementar as propriedades da formulação proposta, também foram incorporados o **resveratrol** e o **óleo de semente de uva**.

2.2.1 Óleo essencial de melaleuca (*M. alternifolia*)

Originária da Austrália, a *Melaleuca alternifolia* é utilizada há anos pelos aborígenes no tratamento de suas doenças. Atualmente, o óleo da melaleuca é empregado como ingrediente ativo de muitos medicamentos e cientistas do mundo inteiro buscam validar suas propriedades (SILVA et al., 2002; CASTRO et al., 2005; GAROZZO et al., 2011; HABA et al., 2014).

O óleo essencial da melaleuca (extraído das folhas e do caule) é obtido por destilação a vapor e contém cerca de 100 componentes, sendo 50% monoterpenos oxigenados e 50% monoterpenos hidrocarbonetos (BROPHY et al., 1989). O principal componente ativo deste óleo é o terpeno-4-ol, mas efeitos sinérgicos de outros terpenos não podem ser excluídos (ALTMAN, 1989).

A aplicação do óleo de melaleuca abrange produtos de uso tópico para humanos e para animais (WESELER et al., 2002). Alguns autores já comprovaram sua ação bactericida contra vários patógenos em humanos (ALTMAN, 1989; SOUTHWELL et al., 1993; CARSON; RILEY, 1995; CARSON; RILEY; COOKSON, 1998; MARKHAM, 1999; CAELLI et al., 2000; MAY et al., 2000; ZHANG; ROBERTSON, 2000; ERNST; HUNTLEY, 2000; CARSON; HAMMER; RILEY, 2006; SHARMA et al., 2010; CHARLES et al., 2013). É amplamente utilizado como

princípio ativo em produtos para infecção cutânea, como fungicida (NENOFF; HAUSTEIN; BRANDT, 1996; SYED et al., 1999; ANDERSON; FENNESSY, 2000; D'AURIA et al., 2001; OLIVA et al., 2003) e anti-inflamatório (HART et al., 2000).

Ainda que pouco disponíveis, na literatura são encontrados estudos sobre a resistência de bactérias e fungos quando expostos ao óleo de melaleuca. De maneira geral, os estudos fornecem pouca evidência que a resistência irá ocorrer, seja *in vitro* ou *in vivo*. Provavelmente, a complexa composição do óleo pode reduzir o potencial de resistência, uma vez que são necessárias mutações simultâneas para vencer todas as ações antimicrobianas de cada um dos componentes (CARSON et al., 1995; NELSON, 1997; ELSOM; HIDE, 1999; NELSON, 2000; VAZQUEZ et al., 2000; GUSTAFSON et al., 2001; MONDELLO et al., 2003; DAVIS et al., 2005).

Apesar do progresso na comprovação das propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias do óleo de melaleuca, são escassos os trabalhos que verificam a segurança e toxicidade de sua utilização. A justificativa para o uso continuado baseia-se na utilização aparentemente segura deste óleo por quase 80 anos. O óleo de melaleuca pode ser considerado um agente irritativo, mas as reações alérgicas podem ser evitadas com o uso do óleo de melaleuca em menores concentrações (CARSON; HAMMER; RILEY, 2006).

O óleo de melaleuca apresenta uma densidade relativa de 0,885 a 0,906, é pouco solúvel em água e miscível com solventes não polares. No que tange a formulação de produtos contendo óleo de melaleuca, existem certas dificuldades a serem contornadas. A hidrofobicidade e a lipofilicidade geram problemas de miscibilidade em produtos à base de água, e a volatilidade exige a utilização de embalagens que forneçam uma barreira adequada para evitar a perda deste óleo. Adicionalmente, o óleo de melaleuca é rapidamente absorvido por polímeros em geral, portanto, o material do recipiente deve minimizar este efeito. Assim, indica-se a utilização de frasco de vidro âmbar para acondicionar este óleo (BUDHIRAJA, 1999; CARSON; HAMMER; RILEY, 2006; BORTOLUZZI, 2008; MILLAR; MOORE, 2008; MONDELLO et al., 2009; GAROZZO et al., 2011; CASTELO et al., 2013; HABA et al., 2014).

2.2.2 Alfa-bisabolol

O alfa-bisabolol é um álcool sesquiterpeno que pode ser encontrado no óleo essencial obtido através das flores da camomila (*Matricaria recutita*), as quais contêm 30% do princípio ativo, ou do tronco da árvore candeia (*Eremanthus erythropappus*). A candeia é encontrada na Mata Atlântica brasileira e seu tronco é moído para a obtenção do alfa-bisabolol com 95% de pureza (FAGRON, 2015).

Essa substância tem sido amplamente utilizada em produtos dermatológicos e cosméticos – como perfumes, xampus, sabonetes, loções corporais, cremes pós-barba, produtos pós-sol e cremes para bebês – e também em produtos de limpeza e higiene devido as suas propriedades (DARRA et al., 2008). Estudos demonstram que o alfa-bisabolol atua como cicatrizante (VILLEGAS et al., 2001), anti-irritante (ANDERSEN et al., 2006), bactericida (BREHM-STECHER; JOHNSON, 2003), fungicida (PAULI, 2006), anti-inflamatório (JAKOVLEV; VON SCHLICHTEGROLL, 1969) e é um excelente protetor à toxicidade induzida por ácido acetilsalicílico (TORRADO et al., 1995).

Ainda acerca de suas propriedades, o α -bisabolol tem efeito citotóxico dose-dependente nas células de glioblastoma⁶ de ratos e humanos e não induz a citotoxicidade em astrócitos⁷ normais, ainda que em condições drásticas de tratamento. Na literatura, é possível encontrar estudos que verificam a ação apoptótica⁸ seletiva do α -bisabolol sobre células humanas e células de glioblastoma. Além disso, o alfa-bisabolol também foi capaz de promover a rápida morte do carcinoma⁹ pancreático. A baixa citotoxicidade frente aos glioblastos¹⁰ sugere a possibilidade de obtenção de compostos derivados do α -bisabolol passíveis de serem utilizados na quimioterapia (CAVALIERI et al., 2004; DARRA et al., 2008).

⁶ Tumor com origem no cérebro ou na medula espinal (ABTA, 2015).

⁷ Células cerebrais que desempenham funções como a sustentação e a nutrição dos neurônios (SOFRONIEW; VINTERS, 2010).

⁸ Apoptose é o termo designado à morte celular programada (GARAY et al., 2003)

⁹ Tumor maligno originado dos epitélios de revestimento externo e interno (INCA, 2011).

¹⁰ Célula constituinte do tecido conjuntivo que forma a substância fundamental amorfa (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

2.2.3 Ácido cítrico

Os alfa-hidroxiácidos (AHAs) pertencem a um grupo especial de ácidos orgânicos não tóxicos encontrados em alimentos naturais e, muitas vezes, são comercialmente referidos como "ácidos de frutas" (VAN SCOTT; YU, 1989; SLAVIN, 1998). Com base na estrutura e função, os AHAs podem ser classificados como α -AHA, β -AHA e ácido salicílico. Um dos representantes mais significativos dos β -AHA é o ácido cítrico (KORNHAUSER; COELHO; HEARING, 2012).

O ácido cítrico – ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico – é um metabólito comum de plantas e animais, utilizado no setor alimentício (60%) e farmacêutico (10%). A acidez do ácido cítrico é devida aos três grupos carboxilas -COOH que podem perder um próton em soluções. Como consequência um íon citrato é formado. Os citratos são bons controladores de pH de soluções ácidas (FAO, 1999; VANDENBERGHE et al., 1999; CHAIR et al., 2012).

O ácido cítrico pode ser extraído de frutos cítricos, como limão ou abacaxi, entretanto mais de 99% da produção deste ácido provém da fermentação microbiana. Um problema comum associado com os métodos de fermentação é a cossíntese do ácido isocítrico, sendo necessária a utilização de técnicas de cristalização para separá-lo do ácido cítrico (FAO, 1999; VANDENBERGHE et al., 1999; CHAIR et al., 2012).

O ácido cítrico é utilizado principalmente na indústria alimentícia devido ao seu sabor agradável e sua alta solubilidade em água. As indústrias de fármacos e de cosméticos correspondem a 10% da utilização deste ácido. Nestes setores, o ácido cítrico é empregado como fragrância, agente quelante ou regulador de pH (VANDENBERGHE et al., 1999; CHAIR et al., 2012).

Chair e colaboradores (2012) publicaram um artigo com estudo realizado *in vivo* sobre os efeitos da utilização de cremes dermatológicos contendo diferentes concentrações de ácido cítrico. Amostras da pele foram analisadas e foi verificado um aumento significativo da espessura da epiderme tratada. Os autores concluíram que a utilização do ácido cítrico induz a síntese de colágeno.

2.2.4 Resveratrol

O resveratrol é classificado como uma fitoalexina e é produzido por plantas como Kojo-kon (*Polygonum cuspidatum*), Kashuwu (*Polygonum multiflorum*), uvas (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*), eucalipto, amendoim, amora (HILLIS; HART; YAZAKI, 1974; LANGCAKE; CORNFORD; PRYCE, 1979; KUBO et al., 1981; KIMURA et al., 1983; ARCE et al., 1998). Na uva, especificamente, esta fitoalexina é sintetizada na casca como resposta ao estresse causado por ataque fúngico (*Botyitis cinerea*, *Plasmopora viticola*), dano mecânico ou por irradiação de luz ultravioleta (SAUTTER et al., 2005).

Dentre as diversas atividades biológicas exercidas pelo resveratrol, a sua ação antioxidante merece destaque devido à relevância para a presente pesquisa (ARICHI et al., 1982; FRANKEL; WATERHOUSE; KINSELLA, 1993; BLOND; DENIS; BEZARD, 1995; BELGUENDOZ; FREMONT; LINARD, 1997; CHANVITAYAPONGS; DRACZYNSKA-LUSIAK; SUN, 1997; FAUCONNEAU et al., 1997; SUN et al., 1997; BELGUENDOZ; FREMONT; GOZZELINO, 1998; DRACZYNSKA-LUSIAK; DOUNG; SUN, 1998; FREMONT; BELGUENDOZ; DELPAL, 1999; GÜLÇİN, 2010). Além disso, também são conhecidas as propriedades anti-inflamatória (PACE-ASCIAK et al., 1996; JANG et al., 1997; ZBIKOWSKA et al., 1999), anticoagulante (KIMURA; OKUDA; ARICHI, 1985; BERTELLI et al., 1995; PACE-ASCIAK et al., 1995; BERTELLI et al., 1996; PACE-ASCIAK et al., 1996; JANG et al., 1997; ORSINI et al., 1997; ZBIKOWSKA et al., 1999) e anticancerígena (JANG et al., 1997; UENOBE; NAKAMURA; MIYAZAWA, 1997; MGBONYEBI; RUSSO; RUSSO, 1998; CIOLINO; DASCHNER; CHAO YEH, 1998; CLEMENT et al., 1998; SUBBARAMAIAH et al., 1998; PINTO; GARCÍA-BARRADO; MACÍAS, 1999; SCHNEIDER et al., 2000; STEWART; CHRISTMAN; O'BRIAN, 2000).

2.2.5 Óleo de semente de uva

A semente de uva é uma matriz complexa que consiste principalmente em 40% de fibras, 16% de óleo, 11% de proteína, 7% de fenóis e taninos, e 4-5% de flavonoides (MURGA et al., 2000; NASSIRI-ASL; HOSSEINZADEH, 2009). Devido a sua composição as atividades biológicas das sementes de uva são vastas (NOWSHEHRI; BHAT; SHAH, 2015).

Dentre as ações, destacam-se as atividades antioxidante (SAKANO et al., 2005; BAYDAR; OZKAN; YASAR, 2007; DU; GUO; LOU, 2007; EL-ASHMAWY; SALEH; SALAMA, 2007; ENGINAR et al., 2007; FURIGA; LONVAUD-FUNEL; BADET, 2009; LUTHER et al., 2007; MORIN et al., 2008; KAR et al., 2009; GEORGIEV; ANANGA; TSOLOVA, 2014; ALI; BADR EL-DIN; ABOU-EL-MAGD, 2015; FURIGA; LONVAUD-FUNEL; BADET, 2015), antimicrobiana (BAYDAR et al., 2006; RHODES et al., 2006; THEIVENDRAN; HETTIARACHCHY; JOHNSON, 2006; SILVÁN et al., 2013; MOLVA; BAYSAL, 2015), anti-inflamatória (WANG et al., 2010A; WANG et al., 2010B; TERRA et al., 2011; PALLARÈS et al., 2013; SANO; TOKUTAKE; SEO, 2013; GEORGIEV et al., 2014), de proteção da pele (YAMAKOSHI et al., 2004; SKOVGAARD; JENSEN; SIGLER, 2006; COSTA et al., 2012) e também anticancerígena (DINICOLA et al., 2010; UCHINO et al., 2010; PARK et al., 2011; VAID; SINGH; KATIYAR; 2011; SHROTRIYA et al., 2012;. PRASAD; KATIYAR, 2013; BAGCHIA et al., 2014; CHEAH; HOWARTH; BASTIAN, 2014; DERRY et al., 2014; DINICOLA et al., 2014; MOLLY et al., 2014;. OLAKU et al., 2015; YEN et al., 2015; ZHU et al., 2015).

2.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO

De acordo com Assumpção (2012), a pesquisa científica vem aperfeiçoando os sistemas de liberação controlada de fármacos uma vez que estes podem contribuir significativamente para o avanço na saúde humana. Ainda, a autora ressalta que este campo de estudo representa uma fronteira de ciência que envolve

diferentes aspectos multidisciplinares. Os sistemas de liberação, descritos na literatura como *drug delivery systems*, buscam a veiculação de agentes bioativos na forma de dispositivos, tais como as nanopartículas (SAFARI; ZARNEGAR, 2014).

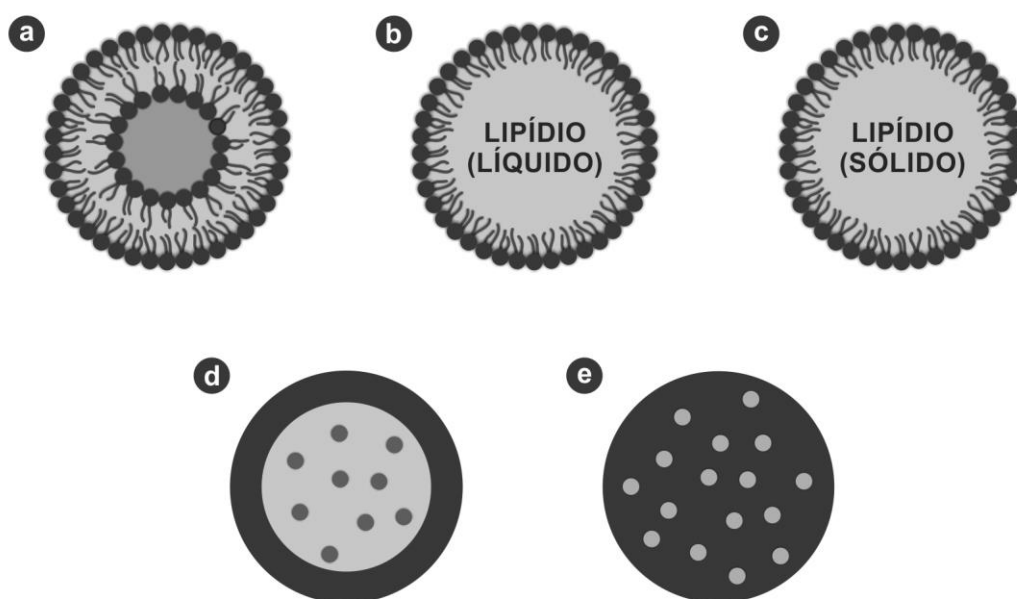
A nanotecnologia¹¹ consiste no desenvolvimento, caracterização e aplicação de materiais em escala nanométrica (MORITZ; GESKE-MORITZ, 2013). MIHRANYAN; FERRAZ; STRØMME (2012). Wang e colaboradores (2014) ressaltam que esta é uma das técnicas mais inovadoras do século atual e seu impacto ecoa na sociedade muito além da ciência convencional. O princípio da nanotecnologia baseia-se na relação de superfície e volume dos materiais manipulados e, portanto, estes interagem com o ambiente circundante diferentemente do que se tivessem tamanhos maiores (NORONHA, 2012; BOIXEDA et al., 2015; SAFARI; ZARNEGAR, 2014). Por esta razão, a nanotecnologia vem sendo amplamente utilizada como uma alternativa de carreamento de substâncias. Atualmente, já é sabido que as nanopartículas podem ser projetadas e produzidas para reconhecer o alvo, liberar o fármaco em resposta a um estímulo particular e, assim, proceder com vasta seletividade e precisão terapêutica (AQIL et al., 2013; BOIXEDA et al., 2015).

Na literatura, é possível encontrar a descrição de diversos nanossistemas que se diferenciam de acordo com sua composição. Dentre esses sistemas, destacam-se os lipossomas, as nanoemulsões, as nanopartículas poliméricas e lipídicas (SILVA, 2004; WANG et al., 2014). Os lipossomas são estruturas vesiculares compostas de membranas lipídicas em bicamada compostas por fosfolipídios (Figura 2a) e a aplicação desses sistemas estende-se para uma variedade de áreas como a liberação de fármacos, cosméticos, agentes de diagnóstico e na indústria alimentar. As nanoemulsões (Figura 2b) são dispersões compostas por dois líquidos imiscíveis, como óleo e água (O/A), que são estabilizados pela ação de um sistema tensoativo (WANG et al., 2014). Conforme Müller (2007) e Wang e colaboradores (2014), as nanopartículas lipídicas (Figura 2c) são derivadas das emulsões O/A, mas o óleo é substituído por um lipídeo sólido

¹¹ O prefixo *nano-* vem do grego e significa "anão". Um nanômetro (nm) equivale à bilionésima parte de um metro (10^{-9} m). De acordo com Jornal Oficial da União Europeia, "um nanomaterial deve ser constituído por 50 % ou mais de partículas compreendidas entre 1 nm e 100 nm" (EUR-Lex, 2011). Entretanto, neste trabalho será utilizada a definição de Zur Mühlen; Schwarz; Mehnert (1998) a qual determina que as dimensões fiquem em torno de 50 a 1000 nm. Esta delimitação é mais adequada, uma vez que é específica para nanopartículas lipídicas.

(nanopartículas lipídicas sólidas). Já as nanopartículas poliméricas incluem as nanocápsulas (Figura 2d), nas quais o invólucro polimérico está disposto ao redor de um núcleo oleoso, e as nanoesferas (Figura 2e) que são formadas por uma matriz polimérica (Schaffazick et al., 2003).

Figura 2 – Esquema da supraestrutura de nanossistemas.



(a) lipossoma, (b) nanoemulsão, (c) nanopartícula lipídica sólida, (d) nanocápsula polimérica, e (e) nanoesfera em matriz polimérica. Modificado de Wang et al. (2014) e Schaffazick et al. (2003).

Diversos estudos já foram realizados acerca da utilização de nanoestruturas para a liberação de fármacos na pele. De acordo com Cevc; Vierl (2010), desenvolver um produto nanotecnológico para uso epicutâneo é uma tarefa difícil devido à complexa barreira formada pelas camadas da pele. Restaurar ou manter essa barreira intacta, para evitar infecções e intoxicações, torna o trabalho ainda mais complicado.

No caso da região genital, a administração de medicamentos por via tópica já é amplamente utilizada, como no caso de agentes bactericidas, fungicidas, antiprotozoários, antivirais, anti-inflamatórios, espermicidas, prostaglandinas e esteroides. Entretanto, ainda são escassos os estudos da liberação de fármacos ou outras substâncias bioativas através de nanossistemas devido à especificidade de

gênero e às variações cíclicas (VALENTA, 2005; FRANK et al., 2014, CARAMELLA et al., 2015).

A via vaginal apresenta uma série de vantagens no que tange à liberação de fármacos por possuir um rico suprimento de sangue, grande área superficial e por sua posição anatômica (VALENTA, 2005). Quando comparada com a cavidade oral, a vagina pode ser uma alternativa mais adequada para a administração de contraceptivos hormonais, por exemplo, já que não há interações medicamentosas observadas no trato gastrointestinal (VALENTA, 2005).

A concentração de estrógeno pode alterar a permeabilidade da membrana vaginal, influenciando a farmacocinética dos medicamentos desenvolvidos para ação sistêmica (OKADA; YASHIKI; MIMA, 1983; ACATURK; ROBINSON, 1996). Além da permeabilidade, a absorção de fármacos pode ser afetada com o volume de fluido vaginal¹². Para Valenta (2005) uma quantidade razoável de umidade pode favorecer a absorção, uma espessa camada de muco cervical pode ser considerada uma barreira, e uma quantidade muito elevada de fluido vaginal pode levar à remoção de fármacos. Ainda em relação à absorção, a autora ressalta que o pH do fluido também pode alterar a absorção do fármaco.

2.3.1 Nanopartículas lipídicas

As nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) foram desenvolvidas no início dos anos 1990 como alternativa para contornar as limitações apresentadas por outros sistemas carregados, como lipossomas, nanoemulsões e nanopartículas poliméricas (MÜLLER et al., 1996; MEHNERT; MÄDER, 2001; PARDEIKE; HOMMOSS; MÜLLER, 2009). Essas partículas têm estrutura semelhante à das nanoemulsões O/A com substituição do óleo por um lipídeo sólido, à temperatura ambiente.

De acordo com Zur Mühlen; Schwarz; Mehnert (1998), o diâmetro das NLS fica em torno de 50 a 1000 nm, são utilizados lipídeos fisiologicamente compatíveis

¹² Uma mulher adulta produz cerca de 2 a 3 gramas de fluido vaginal por dia. Esta quantidade diminui de acordo com a idade (MÜLLER, 1986).

e, para estabilizar a dispersão, tensoativos não tóxicos para recobrir a superfície. Como vantagens, as NLS apresentam alta biocompatibilidade, excelente reprodutibilidade (mesmo quando diferentes métodos de preparação são utilizados) e dispensam a utilização de solventes orgânicos. Em relação aos compostos utilizados, as NLS têm baixa capacidade de carga¹³ e podem ocorrer perdas durante o armazenamento (UNER, 2006).

Foi desenvolvida, então, uma segunda geração de nanopartículas lipídicas, os chamados carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN), observado na Figura 3. Essas partículas são produzidas a partir da mistura entre lipídios sólidos e lipídios líquidos, como, por exemplo, as manteigas. Como vantagem apresentam as seguintes características: são pequenos em tamanho, estáveis, biocompatíveis, biodegradáveis e têm alta capacidade de carga (KHAN et al., 2012).

Figura 3 – Esquema da estrutura de carreadores lipídicos nanoestruturados.



Partículas produzidas a partir da mistura entre lipídios sólidos e lipídios líquidos. figura: do autor.

Os métodos mais comuns para a obtenção das NLS e dos CLN incluem a homogeneização a alta pressão, a homogeneização a frio, a homogeneização a quente ou ultrassom, inversão de fase e evaporação do solvente/emulsificação (DAS; CHAUDHURY, 2011). Dentre as técnicas citadas, vale destacar a homogeneização a alta pressão como a mais rentável devido à possibilidade de produção em maior escala (JENNING; LIPPACHER; GOHLA, 2002).

No que tange à liberação de fármacos de aplicação dérmica, tanto as NLS como os CLN são muito bem tolerados. A estabilidade física das nanopartículas

¹³ A capacidade de carga ou *loading capacity* é a porcentagem do ativo encapsulado em relação à quantidade de lipídio empregado. No caso dos NLS, limita-se esse valor a cerca de 10% da quantidade total de lipídios para que as condições de estabilidade do sistema sejam asseguradas (MÜLLER, MADER, GOHLA, 2000; SCHÄFER-KORTING, MEHNERT, KORTING, 2007).

lipídicas em produtos dérmicos foi provada em várias formulações e de acordo com Pardeike; Hommoss; Müller (2009) pode ser avaliada utilizando métodos já bem estabelecidos. De acordo com levantamento feito pelos autores, os dois primeiros produtos cosméticos que continham nanopartículas lipídicas foram introduzidos no mercado em 2005 e cerca de três anos depois, esse número já havia sido multiplicado 15 vezes. Esses números representam o benefício desses produtos nesta área de aplicação. Dentre esses benefícios, vale destacar a melhora na penetração das formulações na pele, aumentando a eficiência do tratamento e a redução dos efeitos colaterais quando comparado com os tratamentos feitos de forma sistêmica (PARDEIKE; HOMMOSS; MÜLLER, 2009).

2.4 MATERIAIS UTILIZADOS COMO MATRIZ LIPÍDICA

Conforme supracitado, os CLN são constituídos por lipídios sólidos e líquidos. No presente trabalho, além de estruturarem as nanopartículas, esses lipídios (manteiga de cacau e manteiga de cupuaçu) atuam como hidratantes. Os hidratantes são formulações concebidas para manter o teor de água da pele entre 10 e 30 %. Quando deficiente em água, a pele torna-se espessa, áspera ao toque e rompe-se facilmente ao sofrer um trauma, facilitando a entrada de micro-organismos (SPENCER, 1988; DRAELOS, 2000; FLYNN et al., 2001).

Para restabelecer a hidratação da pele, existem, basicamente, dois mecanismos. O primeiro utiliza agentes **umectantes**, ou seja, substâncias que atraem a água para a pele. Geralmente, são utilizados glicosaminoglicanos, tais como o ácido hialurônico. O segundo mecanismo emprega agentes **oclusivos**, como substâncias oleosas, que diminuem a evaporação da água para a atmosfera (BOISITS, 1986; BAKER, 1987; SPENCER, 1988; DRAELOS, 2000; FLYNN et al., 2001).

Uma vez que os CLN são compostos por lipídios, o hidratante selecionado para compor a formulação em desenvolvimento é um agente oclusivo. Sendo assim, para estar em consonância com o objetivo principal desta pesquisa (item 1.1.1), é de fundamental importância que esta substância seja de origem vegetal.

Com mais de 40 mil espécies de plantas diferentes, o Brasil é mundialmente conhecido pela sua biodiversidade (OLIVEIRA et al., 2012). Os benefícios das plantas nativas do Brasil são incansavelmente investigados e novos produtos surgem a cada descoberta. No que tange à utilização de manteigas vegetais como agentes hidratantes, cabe ressaltar a ampla utilização do cacau e do cupuaçu (SPENCER, 1988; DRAELOS, 2000; NOGUEIRA et al., 2008; DAVIS; PEREZ, 2009; FLECK; NEWMAN, 2012; MOORE, 2012; YANG; ZOU, 2013; CASTRO et al., 2015).

2.4.1 Manteiga de cacau

O cacauieiro (*Theobroma cacao*) é uma árvore perene originária da América do Sul (ALMEIDA; VALLE, 2007). O cultivo de cacau representa uma das culturas mais importantes do mundo, com uma produção superior a 400 mil toneladas nos anos de 2012 e 2013 (ICCO, 2013). Esta manteiga é altamente estável, tem textura suave e é rica em substâncias antioxidantes, o que possibilita a sua utilização nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica (LIENDO; PADILHA; QUINTANA, 1997; INOVAM, 2015).

A manteiga de cacau é considerada o subproduto do cacau de maior representatividade devido às suas características físico-químicas. É composta por um conjunto de ácidos graxos na forma de triacilglicerídeos, que contém uma molécula de glicerol (um álcool triídrico) e um a três ácidos graxos ligados a essa molécula. A manteiga de cacau pode apresentar, também, pequenos teores de álcoois esteroides (LIPP; ANKLAM, 1998; CAMPOS et al., 2010). A Tabela 5 apresenta a composição de ácidos graxos para manteigas de cacau oriundas de diferentes países.

De acordo com os dados apresentados, a manteiga de cacau proveniente do Brasil merece destaque por apresentar os mais altos níveis de ácido oleico (ômega 9) e linoleico (ômega 6). Esses ácidos graxos essenciais possuem diversos mecanismos de proteção à pele, seja pela ação regeneradora do ômega-9 ou da melhora da função de barreira do ômega-6 (DERMAGE, 2015).

Tabela 5 – Composição de ácidos graxos (%) de manteiga de cacau em alguns países de origem.

País de origem	Equador	Brasil	Gana	Costa do Marfim	Malásia	Java
Ác. palmítico	25,6	25,1	25,3	25,8	24,9	24,1
Ác. esteárico	36,0	33,3	37,6	36,9	37,4	37,3
Ác. oleico	34,6	36,5	32,7	32,9	33,5	34,3
Ác. linoleico	2,6	3,5	2,8	2,8	2,6	2,7
Ác. linolênico	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Ác. araquídico	1,0	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Ác. beénico	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Fonte: Lipp; Anklam (1998).

Os benefícios da aplicação da manteiga de cacau diretamente sobre a pele incluem a cicatrização de queimaduras suaves, a desinfecção de feridas e excelente hidratação. A ingestão do cacau tem sido associada ao aumento da capacidade de fotoproteção contra a radiação ultravioleta e à ativação da circulação sanguínea dérmica auxiliando na melhora de eritemas e feridas (DILLINGER et al., 2000; MIDDLETON JR; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000; HEINRICH et al., 2006).

2.4.2 Manteiga de cupuaçu

A árvore do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é típica da floresta amazônica, norte do Brasil. A polpa da fruta é muito apreciada pelo seu agradável sabor, sendo consumida como suco, sorvete, doce e geleia. Possui fragrância intensa e seus compostos voláteis têm sido extensivamente analisados, assim como a concentração de vitamina C (CAVALCANTE, 1979; VIEIRA; TEIXEIRA; SILVA, 2000; QUIJANO; PINO, 2007; FLECK; NEWMAN, 2012).

A manteiga de cupuaçu, extraída das sementes da fruta, é composta de triglicerídeos que possuem um equilíbrio perfeito de ácidos graxos saturados e insaturados. Essa estrutura confere à manteiga um baixo ponto de fusão (entre 32 e 36 °C) e é devido a este fator que é rapidamente absorvida pela pele (NATURAL

SOURCING, 2015). A propriedade de rápida penetração transdérmica e a capacidade de reter umidade fazem com que a manteiga de cupuaçu seja considerada um "super-hidratante" (YANG et al., 2003; NOGUEIRA et al., 2008).

Adicionalmente, a manteiga de cupuaçu é rica em fitoesteróis, os quais são benéficos para a pele seca e danificada, e polifenóis, que combatem os danos causados pelos radicais livres, e ácidos graxos, que protegem e hidratam a pele. Assim como a fruta, a manteiga contém poderosos antioxidantes, especialmente o beta-sitosterol, que têm sido utilizados para tratar dermatites e estimular o processo de cicatrização (SILVA et al., 2008).

Um estudo envolvendo a utilização da manteiga de cupuaçu na produção de nanopartículas lipídicas visando à utilização em produtos cosméticos foi publicado por Colomé e colaboradores (2010). Foram avaliados diferentes métodos de preparação (homogeneização a alta pressão e emulsificação-evaporação do solvente) com diferentes concentrações da manteiga, bem como as características físico-químicas e a estabilidade dessas partículas nomeadas de "Theospheres". Os autores descrevem que obtiveram sucesso com ambas as técnicas de preparação e que as formulações com até 10% (p/v) de lipídio apresentaram melhores resultados.

2.5 CONTROLE DE QUALIDADE DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS

O desenvolvimento de produtos cosméticos ou farmacêuticos requer a garantia da estabilidade físico-química de seus componentes durante a vida de prateleira. Diversos ensaios laboratoriais permitem caracterizar os nanossistemas a fim de verificar a estabilidade das formulações. A seleção das técnicas de caracterização e de estabilidade de nanopartículas varia conforme a composição das formulações (SCHAFFAZICK et al., 2003; NOHYNEK et al., 2010; WU; ZHANG; WATANABE, 2011).

No Brasil, o órgão que regulamenta e fiscaliza todos os setores relacionados a produtos e serviços que possam afetar a saúde da população brasileira é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). No "Guia de Estabilidade de

Produtos Cosméticos" desenvolvido pela agência, é possível encontrar subsídios e diretrizes para a produção de produtos cosméticos (ANVISA, 2004). Os estudos descritos neste guia são divididos em:

- Estabilidade Preliminar que consiste em testes realizados na fase inicial do desenvolvimento do produto, auxiliando na triagem das formulações;
- Estabilidade Acelerada que auxilia na determinação da estabilidade da formulação selecionada previamente; e
- Teste de Prateleira utilizado para avaliar o comportamento do produto em condições normais de armazenamento.

No presente trabalho, não foram realizados os testes de Estabilidade Preliminar, uma vez que os materiais e as concentrações utilizadas são baseados em estudos publicados por outros autores.

Os principais métodos utilizados na caracterização das formulações desenvolvidas e para averiguar a estabilidade física das formulações é a **determinação do tamanho de partícula** e a **distribuição do tamanho**. A técnica de difração de laser é empregada para avaliar a distribuição de diâmetro e detectar a presença de populações micrométricas presentes nas formulações nanotecnológicas desenvolvidas. A Espectroscopia de Correlação de Fótons (PCS), também conhecida como Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), para a determinação do tamanho e distribuição de partículas nanométricas suspensas em um meio líquido. Com os dados obtidos, obtém-se o Índice de Polidispersão (PDI). Se o valor do PDI estiver entre 0,1 a 0,25, a amostra apresenta uma distribuição estreita de tamanhos. Enquanto que valores acima de 0,5 referem-se a uma distribuição ampla (PATRAVALE; DATE; KULKARNI, 2004).

A **carga superficial da partícula** também influencia a estabilidade da formulação. A determinação desta carga é realizada a partir da medição do Potencial Zeta que é avaliado a partir da mobilidade eletroforética das partículas suspensas no meio (WU; ZHANG; WATANABE, 2011). Em geral, um valor absoluto acima de 60 mV produz excelente estabilidade, em torno de 30 gera boa estabilidade, 20 pode ser aceitável em curto prazo e abaixo de 5 mV resulta em

rápida agregação de partículas. Cabe ressaltar que esta regra é válida apenas para a estabilização eletrostática pura ou em combinação com surfactantes de baixo peso molecular (MISHRA et al., 2009).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é amplamente empregada na avaliação da **estabilidade química**. Esta técnica fornece uma análise quantitativa precisa acerca das substâncias bioativas incorporadas nas formulações desenvolvidas e de seus produtos de degradação. Outras técnicas, como a Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), também podem avaliar a estabilidade química, entretanto elas não são tão sensíveis quanto a CLAE. Portanto, não são amplamente utilizadas para determinar a estabilidade de substâncias encapsuladas em nanopartículas (WU; ZHANG; WATANABE, 2011).

Além da determinação da estabilidade química, a CLAE também é utilizada na avaliação qualitativa e quantitativa das substâncias. Com os dados gerados, os cromatogramas, obtém-se a "impressão digital" dos constituintes dos nanossistemas e, assim, torna-se possível a determinação do **teor dos principais componentes** da formulação (TONHL et al., 2002).

Quando se trata de formulações cosméticas ou farmacêuticas, ferramentas adicionais de caracterização podem ser necessárias, bem como ensaios *in vitro* ou *in vivo* (WU; ZHANG; WATANABE, 2011). No caso de produtos de uso tópico, esses testes auxiliam na elucidação da interação das substâncias com a pele. Desde os anos 1980, técnicas e metodologias alternativas vêm sendo criadas a fim de diminuir o uso e o sofrimento de animais em ensaios pré-clínicos. Entretanto, até o presente momento, nem todas estão validadas, pois os resultados obtidos foram divergentes entre os laboratórios (ANVISA, 2016). No presente estudo, foram utilizadas somente técnicas *in vitro*.

As análises de lavabilidade, permeação e penetração revelam as características da **interação entre a formulação proposta e a pele** em um determinado intervalo de tempo. Na lavabilidade, um componente ativo é retirado (lavado) por uma solução tampão a qual é quantificada, determinando a taxa de adesão deste ativo sobre a pele. A permeação indica a quantidade de componente ativo que ultrapassou as camadas superficiais (como o estrato córneo), consideradas as principais barreiras de proteção da pele (BARRY, 1983). Por sua

vez, a penetração determina a quantidade de componente ativo que fica retida no interior de uma determinada camada da pele (SKELLY et al., 1987).

Para verificar o **potencial irritante** de produtos cosméticos, utiliza-se o HET-CAM. Descrito no Guia de Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos elaborado pela ANVISA, este é um teste *in vitro* realizado em ovos embrionados de galinha (em inglês, *hen's egg test – HET*) o qual utiliza a membrana cório-alantóide (em inglês, *chorioallantoic membrane – CAM*). Após a aplicação do produto, são observados os efeitos irritantes (hemorragia, coagulação e vasoconstrição) causados na membrana (ANVISA, 2003; KATZER et al., 2014).

2.6 IMPREGNAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS EM TÊXTEIS

O setor têxtil está cada vez mais interessado em desenvolver tecidos caracterizados por diferentes propriedades. Nos últimos anos, pesquisadores têm investigado a utilização de têxteis funcionais nas áreas da saúde, higiene e beleza. Os tecidos que possuem em sua composição elementos de cuidados com o corpo, *fitness* e saúde são classificados como "têxteis cosméticos". Quando em contato com o corpo, os tecidos liberam ingredientes ativos que são gradativamente absorvidos pela pele (FISHER, 2002; ANON, 2005; CZAJKA, 2005; KAN; YUEN, 2005; WANG; CHEN, 2005; CHENG et al., 2010; SINGH; VARUN; BEHERA, 2011; BHARGAVA; JAHAN, 2012).

Para alcançar este efeito funcional, a nanotecnologia pode ser considerada uma alternativa viável uma vez que aumenta a durabilidade dos componentes – principalmente de substâncias voláteis, como os óleos essenciais – e possibilita uma liberação controlada dos ingredientes ativos. Diversos estudos vêm sendo feitos sobre a impregnação de nanopartículas em têxteis (ABOU-OKEIL et al., 2012). Para aumentar a eficácia da incorporação dessas substâncias, é imprescindível conhecer o substrato com o qual se deseja trabalhar. De acordo com Alcântara; Daltin (1996), a propriedade do fio que constitui tecido, por exemplo, caráter hidrofílico (algodão) ou hidrofóbico (polipropileno) afeta diretamente também na adsorção de substâncias.

O têxtil selecionado para os estudos do presente trabalho é o tecido não-tecido (TNT). Esses materiais são amplamente empregados em estruturas para uso higiênico devido a sua capacidade de absorção de fluidos, descartabilidade, conforto e facilidade de fabricação do produto absorvente. Apesar de serem constituídos de fibras ou fibrilas, os TNT diferem-se dos tecidos têxteis, pois suas fibras não são tricotadas, tecidas ou entrançadas (DRELICH, 1981; PURDY, 1983; ALCÂNTARA; DALVIN, 1996; HUTTEN, 2007). De acordo com a NBR-13370:2002, o não-tecido é uma "estrutura plana, flexível e porosa, constituída de véu ou manta de fibras, ou filamentos, orientados direcionalmente ou ao acaso, consolidada por processo mecânico (fricção) e/ou químico (adesão) e/ou térmico (coesão), ou combinações destes" (ABNT, 2002, p. 4).

A incorporação de substâncias no TNT já é conhecida em curativos para queimaduras (VARLEY; BARNETT; SCALES, 1981; YANG; LIN, 2004; CHEN et al., 2005; CHEN; LEE, 2008; HONG et al., 2008; ABOU-OKEIL et al., 2012; CHINTA et al., 2012). Entretanto, a ampla utilização deste material no setor de higiene vem impulsionando novos estudos de impregnação para aplicação em outros produtos como absorventes higiênicos, lenços umedecidos, fraldas e palmilhas (UNITIKA LTD, 1993A; UNITIKA LTD, 1993B; CORD CONTRACT RESEARCH UND DEVELOPMENT GMBH, 2000; GRAY; MINOGUCHI; P&G, 2000; BOH; KNEZ, 2007; MIBELLE AG, 2008; ABIGO MEDICAL AB et al., 2009; AHAMED et al., 2012; SHENZHEN YANQIAN TECHNOLOGY CO LTD, 2013; 河南舒莱卫生用品有限公司, 2013; P&G, 2014).

Na literatura, diversos métodos de impregnação já foram descritos. Até o momento, não foi encontrado um método específico para incorporação de nanopartículas lipídicas em TNT. Sendo assim, foi feita uma breve revisão de publicações cuja metodologia abrange diferentes substâncias, substratos e formas de aplicação. Boh; Knez (2007) impregnaram TNT com microcápsulas com a utilização de uma bacia de impregnação (banho) sem demais detalhes acerca da metodologia. Abou-Okeil e colaboradores (2012) mantiveram amostras de TNT em uma solução de nanopartículas de prata durante 30 minutos. Transcorrido o tempo de banho, as amostras foram prensadas entre dois papéis-filtro para remover o excesso de solução e foram secas por 5 minutos a uma temperatura de 100 °C. De acordo as conclusões, ambas as técnicas obtiveram resultados satisfatórios.

Assumpção (2012) utilizou o banho como método para impregnar nanopartículas em têxteis. Amostras de algodão e poliéster foram imersas em dispersões aquosas e mantidas sob agitação magnéticas em diferentes tempos: 0,25; 0,5; 2,5; 6 e 24 horas. Posteriormente, os tecidos foram secos a temperatura ambiente por 24 horas. Como a quantidade do ativo não variou com o aumento do tempo de imersão, foi determinado que 0,25 horas eram suficientes para impregnar as nanopartículas nos tecidos.

Para a impregnação de microcápsulas, Rossi (2012) adaptou o processo de tingimento de tecidos por esgotamento descrito por Salem (2010). As amostras de algodão e poliéster foram imersas em solução aquosa e mantidas sob agitação mecânica de 200 rpm por 2, 4 e 24 horas. Após a impregnação, os tecidos foram secos em dessecador por 24 horas. Em análise realizada por MEV, foi determinado que o tempo de banho necessário para impregnar as microcápsulas era de 24 horas.

Forgearini (2014) avaliou a aspersão como método para impregnar uma suspensão de nanocápsulas em algodão e poliéster. As formulações foram borrifadas 1, 3 e 5 vezes sobre as amostras de tecidos a fim de determinar a melhor quantidade impregnada após aplicação. A quantidade teórica de ativo foi feita pela verificação da massa dos tecidos – antes e depois da aplicação do produto – e pela densidade relativa das formulações. Feitas as análises, determinou-se que 3 borrifadas eram suficientes para impregnar a suspensão nos tecidos.

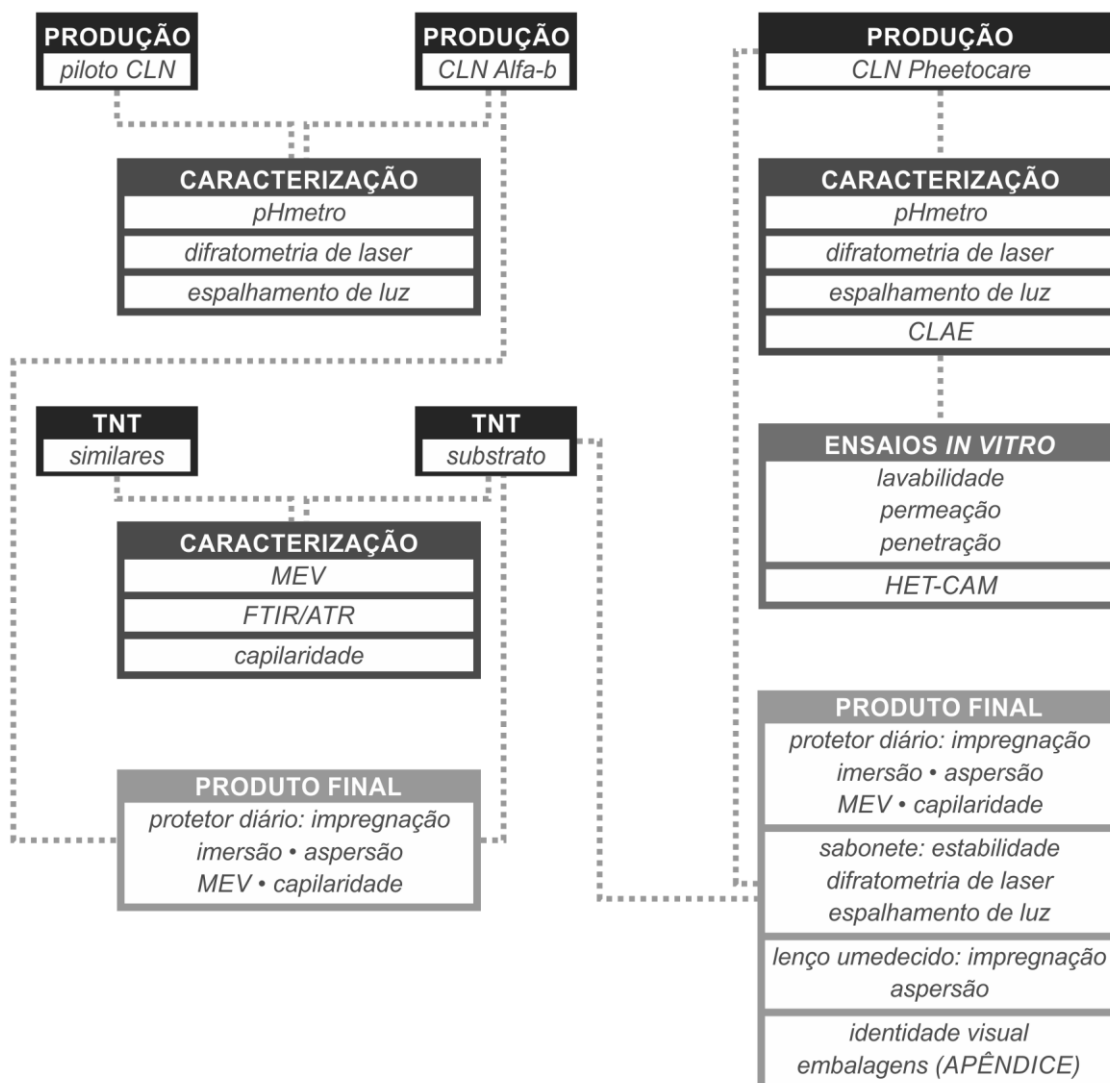
Na patente depositada por Falkowski e colaboradores (2011), sugere-se que a micro- ou nanoemulsão aquosa contendo substâncias benéficas para a pele seja pulverizada diretamente sobre o têxtil. Os autores recomendam a utilização de uma pressão inferior a 200 bar (2900,75 psi). Beretta e colaboradores (2016) pulverizaram uma formulação de microcápsulas diluída em água e resina diretamente sobre as amostras com uma pressão de 2 a 3 bar (30 a 43 psi).

Alguns autores ainda sugerem um tratamento preliminar do tecido nãotecido a fim de remover substâncias residuais (GUPTA, 2002). Yang e colaboradores (2003), Yang; Lin (2004) e Abou-Okeil e colaboradores (2012) utilizaram água destilada e ultrassom para lavar o tecido nãotecido o qual foi seco sob pressão reduzida. Chen e colaboradores (2005) e Chen e colaboradores (2006) lavaram o nãotecido em solução de 95% de álcool durante uma noite antes de utilizá-lo nos ensaios. Os autores não especificaram o método de secagem.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Embora existam diversas opções para a higienização da região íntima feminina, alguns produtos disponíveis no mercado possuem em sua composição substâncias cujos possíveis efeitos no organismo ainda são questionados e estudados por pesquisadores. Assim, no presente trabalho foi proposto o desenvolvimento de uma formulação de base nanotecnológica constituída de substâncias de origem vegetal, bem como sua aplicação nos produtos finais. A metodologia utilizada consiste na obtenção, caracterização e aplicação de carreadores lipídicos nanoestruturados em produtos para a higiene íntima feminina (Figura 4).

Figura 4 – Fluxograma das etapas contempladas nos procedimentos experimentais.



Fonte: do autor.

Foram realizados estudos preliminares da composição a fim de determinar os componentes a serem utilizados na formulação. Tanto as composições preliminares, quanto a final foram submetidas a ensaios de caracterização e de estabilidade. Para o desenvolvimento da cobertura dos protetores diários, foi realizada a caracterização de produtos similares (protetores diários disponíveis no mercado) e do material utilizado na presente pesquisa. Por fim, a aplicação da substância desenvolvida no material foi realizada a partir de uma série de ensaios para determinar o método que estivesse em consonância com a proposta deste trabalho.

3.1 TESTE PILOTO: PRODUÇÃO DE DISPERSÕES AQUOSAS DE CLN UTILIZANDO COMO MATRIZ LIPÍDICA MANTEIGA DE CACAU OU MANTEIGA DE CUPUAÇU

Como estudo preliminar, foram avaliadas duas formulações de dispersões aquosas de CLN. A primeira composição tem como matriz lipídica a manteiga de cacau (*Theobroma cacao L.*), adquirida na empresa Delaware (Porto Alegre, RS), e a segunda, a manteiga de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), da empresa Inovam (Porto Velho, RO). Como substância ativa de ambas as formulações, utilizou-se o óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), da empresa Sigma Aldrich (São Paulo, SP). Além desses componentes, foram acrescentados: ácido cítrico (CRQ – Diadema, SP), como regulador de pH; hidroxitolueno butilado (Delaware – Porto Alegre, RS), como antioxidante; polissorbato 80 (Henrifarma – São Paulo, SP), como agente tensoativo; imidazolinidil ureia (Alpha Química – São Paulo, SP), como conservante; e água destilada. Vale ressaltar que os aditivos supracitados (hidroxitolueno butilado, polissorbato 80 e imidazolinidil ureia) constam no Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira e, portanto, estão autorizados a serem utilizados (ANVISA, 2012). A concentração de cada componente foi determinada a partir de estudos realizados por outros autores conforme consta na Tabela 6.

Tabela 6 – Teste piloto: concentração dos componentes das formulações de CLN.

Fase	Componente	Conc. (%p/v)	Autor
Lipídica	Manteiga de Cacau	8	Bueno, et al. (2013)
	Manteiga de Cupuaçu	8	Colomé, et al. (2010)
	Hidroxitolueno butilado (BHT)	0,05	Bueno, et al. (2013)
	Óleo de Melaleuca	1,5	Univ Northwest A & F (2012)
Aquosa	Polissorbato 80 (Tween 80)	2	Bueno et al. (2013)
	Imidazolinidil Uréia	0,1	Beraldo (2013)
	H ₂ O q.s.p.	100	-
-	Ácido cítrico	1	Medicis Pharm Corp, et al. (2014)

Fonte: do autor.

Para a obtenção das dispersões aquosas de CLN foi utilizado o método de homogeneização a alta pressão conforme descrito por Colomé e colaboradores (2010), Assumpção (2012), Bueno e colaboradores (2013) e Svetlichny e colaboradores (2015). O processo foi seccionado em quatro etapas: (i) preparação da fase oleosa, (ii) preparação da fase aquosa, (iii) homogeneização da formulação e (iv) adição do ácido cítrico.

A fase oleosa (i) foi obtida colocando-se, primeiramente, a manteiga de cacau em banho-maria a uma temperatura de 40 °C até a sua completa fusão. A seguir, mantendo-se a temperatura constante, acrescentou-se o hidroxitolueno butilado (BHT), o qual permaneceu em agitador magnético até que estivesse totalmente dissolvido na manteiga de cacau. Por fim, foi adicionado o óleo de melaleuca.

A fase aquosa (ii) iniciou com a dissolução do Tween 80 em água destilada a uma temperatura de 40 °C. Então, a temperatura foi elevada para 45-50 °C e acrescentou-se a imidazolinidil ureia. A solução permaneceu em agitador magnético até que todos os componentes estivessem homogeneamente dispersos.

Na etapa seguinte (iii), a fase aquosa foi vertida na fase oleosa e a homogeneização da solução foi realizada no dispersor Ultraturrax T25, da empresa Ika, Alemanha. Foi necessário um ciclo de 11000 rpm durante 1 min, seguido por outro ciclo de 13000 rpm por mais 1 min. Deste processo resultou uma emulsão grosseira. A emulsão obtida foi submetida à homogeneização a alta pressão (Panda 2K NS1001L, Niro Soavi, Itália). Foram empregados 3 ciclos utilizando-se uma

pressão de 220 bar. Para a obtenção das dispersões de CLN com a manteiga de cupuaçu como matriz lipídica, foram repetidas as etapas i, ii e iii.

Como o efeito do ácido cítrico era desconhecido, este regulador de pH foi adicionado (iii) a uma fração de cada emulsão para fins de comparação. As amostras foram denominadas como nanocarreadores lipídicos de *Theobroma cacao* L. (NLC), nanocarreadores lipídicos de *Theobroma cacao* L. com ácido cítrico (NLCc), nanocarreadores lipídicos de *Theobroma grandiflorum* (NLG), nanocarreadores lipídicos de *Theobroma grandiflorum* com ácido cítrico (NLGc). As análises para caracterização e determinação da estabilidade físico-química das quatro formulações foram realizadas conforme descrito nos itens 3.4.1 *Determinação do pH*, 3.4.2 *Determinação do diâmetro de partícula*, 3.4.3 *Potencial zeta* e 3.4.4 *Estabilidade das dispersões de CLN*.

3.2 PRODUÇÃO DA DISPERSÃO AQUOSA DE CLN ALFA-B¹⁴

A partir das análises realizadas com as dispersões supracitadas (NLC, NLCc, NLG e NLGc), a formulação foi otimizada no intuito de ampliar suas propriedades benéficas para a saúde íntima feminina (Tabela 7).

Tabela 7 – Concentração dos componentes da dispersão aquosa de CLN Alfa-b.

Fase	Componente	Conc. (%p/v)
Lipídica	Manteiga de Cupuaçu	8
	BHT	0,05
	Óleo de Melaleuca	1,5
	α-Bisabolol	0,15
Aquosa	Tween 80	2
	Imidazolinidil Uréia	0,1
	H ₂ O q.s.p.	100
-	Ácido cítrico	1

Traduzido de Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

¹⁴ As informações contidas neste item estão publicadas em Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

Foi determinada a utilização da manteiga de cupuaçu como matriz lipídica e foi adicionado o alfa-bisabolol (Fagron – São Paulo, SP) como mais um componente ativo. Essa formulação foi denominada "Alfa-b". A concentração do alfa-bisabolol foi determinada com base na patente de Feedback Trayer SL (2010). A dispersão aquosa de CLN Alfa-b foi obtida pelo método de homogeneização a alta pressão seguindo a metodologia descrita no item 3.1.

3.3 PRODUÇÃO DA DISPERSÃO AQUOSA DE CLN PHEETOCARE

Após analisar a dispersão com alfa-bisabolol, a formulação foi otimizada para ampliar ainda mais suas propriedades benéficas para a saúde íntima feminina (Tabela 8). Para tanto, foram incorporados o resveratrol (Reativo – Porto Alegre, RS) e o óleo de semente de uva (Delaware – Porto Alegre, RS). A concentração dos componentes ativos acrescentados foi determinada com base em Coradini e colaboradores (2015). Essa formulação foi denominada "Pheetocare". A dispersão aquosa de CLN Pheetocare foi obtida pelo método de homogeneização a alta pressão seguindo a metodologia descrita no item 3.1. Entretanto, a etapa de homogeneização a alta pressão foi realizada no equipamento Emulsiflex-C3, da Avestin (Canadá). Foram empregados 3 ciclos a uma pressão de 500 bar.

Tabela 8 – Concentração dos componentes da dispersão aquosa de CLN Pheetocare.

Fase	Componente	Conc. (%p/v)
Lipídica	Manteiga de Cupuaçu	8
	BHT	0,05
	Óleo de Melaleuca	1,5
	α-Bisabolol	0,15
	Resveratrol	0,05
	Óleo de semente de uva	1,6
	Etanol	7,89
Aquosa	Tween 80	2
	Imidazolinidil Uréia	0,1
	H ₂ O q.s.p.	100
-	Ácido cítrico q.s.	4,0

Fonte: do autor.

3.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES

3.4.1 Determinação do pH

A análise de pH das dispersões foi realizada utilizando-se o pHmetro Digimed (modelo DM-22) previamente calibrado com tampão 4,0 e 7,0. A medição foi feita diretamente nas suspensões nos tempos 0, 7, 15 e 30 dias. As amostras permaneceram em ambiente controlado, ao abrigo da luz, com Umidade Relativa de $65 \pm 5\%$ e temperatura de 25 ± 2 °C.

3.4.2 Determinação do diâmetro de partícula

A distribuição de tamanho de partícula foi obtida por difratometria de laser (equipamento Mastersizer[®] 2000, Malvern). Foram utilizados como parâmetros o índice de refração das manteigas de 1,47 e um espectro de leitura entre 0,02 e 2000 μm .

O diâmetro baseado no volume ($d_{4,3}$) foi utilizado como diâmetro médio. Medidas do diâmetro de partículas correspondentes a 10%, 50% e 90% da distribuição acumulada ($d_{0,1}$, $d_{0,5}$ e $d_{0,9}$, respectivamente) também foram realizadas. Por meio dessas medidas foi realizada a determinação do *span*, definido como uma medida da dispersão granulométrica, sendo calculado pela equação 1 (CHEN; DAVIS, 2002):

$$\text{span} = \frac{d_{0,9} - d_{0,1}}{d_{0,5}} \quad (1)$$

As formulações propostas tiveram seu z-average e índice de polidispersão (PDI) determinados por meio de espalhamento de luz dinâmico (DLS). Ambas as análises foram realizadas no equipamento Zetasizer[®] nano-ZS (modelo ZEN 3600,

Malvern) após diluição das dispersões 1000 vezes (v/v) em água destilada filtrada por membrana de 0,45 µm Millipore®.

3.4.3 Potencial zeta

O potencial zeta das formulações contendo os nanocarreadores foi determinado pelo equipamento (Zetasizer® nano-ZS modelo ZEN 3600, Malvern) que faz a medida da mobilidade eletroforética. As dispersões foram diluídas 1000 vezes (v/v) em solução de NaCl 10 mM filtrado (membrana de 0,45 µm Millipore®). Os resultados foram obtidos pela média de três determinações.

3.4.4 Estabilidade das dispersões de CLN

As dispersões de CLN (NLC, NLCc, NLG e NLGc) foram avaliadas quanto à estabilidade com base no diâmetro médio de partícula (medido por difratometria de laser e espalhamento de luz dinâmico), bem como potencial zeta e pH nos tempos 0, 15 e 30 dias. A dispersão de CLN Alfa-b foi submetida à mesma avaliação, entretanto, nos tempos 0, 7, 15 e 30 dias. Já para a dispersão de CLN Pheetocare foi avaliada nos tempos, 0, 7, 14, 21 e 28 dias.

As formulações ficaram armazenadas em câmara climática modelo MA835/F-172, marca Marconi Equipamentos para Laboratórios Ltda. De acordo com as diretrizes para ensaios de Estabilidade Acelerada do Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA, 2004), as formulações devem permanecer em ambiente controlado com Umidade Relativa de $65 \pm 5\%$ e temperatura de 37 ± 2 °C. Entretanto, o parâmetro da temperatura foi alterado para 25 ± 2 °C, já que a manteiga de cupuaçu possui ponto de fusão de 33 °C e temperaturas elevadas poderiam alterar principalmente parâmetros físicos das formulações.

3.4.5 Teor de resveratrol na dispersão aquosa de CLN Pheetocare

O teor de resveratrol foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O método analítico empregado para quantificação do resveratrol empregou fase móvel acetonitrila:água (1:1) acidificada a pH 3,0 com ácido acético 10% contendo perclorato de tetrabutilamônio (0,05 % p/v), vazão de 0,6 mL/min e comprimento de onda de detecção de 305 nm; coluna RP-18 (150 mm X 4,6 mm X 5 µm, 110 Å), com pré-coluna.

Para esse experimento foi realizado uma curva de resveratrol em acetonitrila na concentração de 2,5 a 12,5 µg/mL, a qual se mostrou linear ($r^2 = 0,9992$). Esses valores foram utilizados para determinar o teor de resveratrol na dispersão aquosa de CLN Pheetocare durante a análise de estabilidade, realizada em triplicata de lotes nos tempos de 0, 7, 14, 21 e 28 dias.

Para os experimentos de lavabilidade, permeação e penetração de resveratrol na mucosa vaginal suína o mesmo método analítico foi empregado. Porém, a curva de resveratrol foi obtida no tampão utilizado nos experimentos, a linearidade foi comprovada na faixa de 0,1 a 2,5 µg/mL ($r^2 = 0,9951$) com baixo limite de detecção e quantificação: 0,011 e 0,037 µg/mL, respectivamente.

3.5 PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO SABONETE

Para a produção do sabonete, lauril éter sulfosuccinato de sódio (Delaware – Porto Alegre, RS), como tensoativo, e hidroxietilcelulose (Delaware – Porto Alegre, RS), como espessante, foram incorporados à dispersão aquosa de CLN Pheetocare. Para identificar o comportamento dos CLN frente a esse incremento, três formulações com diferentes concentrações de lauril éter sulfosuccinato de sódio (1, 2 e 5 % [p/p]) foram avaliadas quanto à estabilidade com base na distribuição do tamanho de partícula (medido por difratometria de laser) nos tempos 0, 15 e 30 dias. A concentração da hidroxietilcelulose foi mantida em 0,5 % (p/p).

3.6 ENSAIOS *IN VITRO* DA DISPERSÃO AQUOSA DE CLN PHEETOCARE

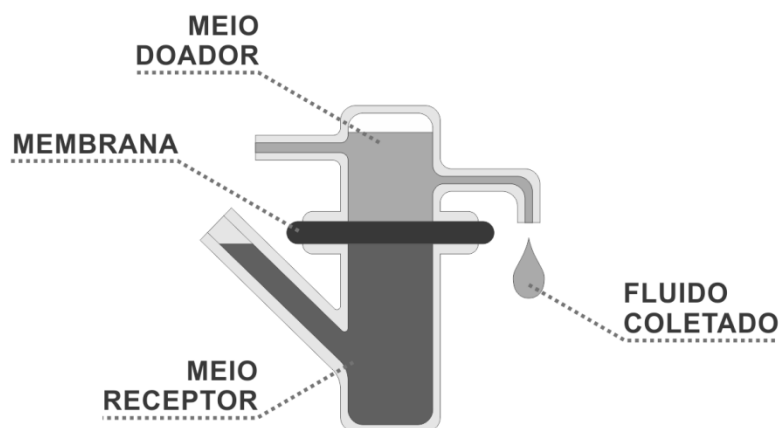
3.6.1 Análise da lavabilidade em mucosa vaginal suína

O ensaio de lavabilidade foi realizado conforme metodologia descrita por Frank e colaboradores (2014). Para tanto, foram utilizadas mucosas vaginais frescas de suínos. Essas mucosas foram obtidas por meio de doação do Frigorífico Borrússia, localizado em Osório, RS.

Uma célula de Franz adaptada (Figura 5), com 2,5 mL de solução tampão (pH 4,0) no meio receptor, foi montada utilizando a mucosa vaginal como membrana. Sobre a mucosa foram aplicados 100 μ L da formulação e mantidos por 60 min para que a adesividade fosse avaliada posteriormente (CONTRI et al., 2014). Após esse intervalo de tempo, a câmara doadora recebeu uma corrente da solução tampão pH 4,0 (mantido sob agitação constante a 37°C) a um fluxo de 0,2 mL/min mantido por uma bomba de fluxo (modelo 420, Kontron Instruments, Milão, I).

O valor do fluxo, bem como o pH e a temperatura da solução tampão foram ajustados de forma a simular a ação de remoção do fluido vaginal (VALENTA et al., 2005). A solução de lavagem foi coletada a cada 10 min durante 1 hora e, em seguida, a cada 30 min durante 4 horas, totalizando 5 horas de experimento.

Figura 5 – Desenho esquemático da célula de Franz utilizada na análise de lavabilidade.



Fonte: do autor.

Além disso, após o tempo final de experimento (300 min), foi coletada uma amostra de 1 mL do meio receptor da célula de Franz. Desta forma, foi possível quantificar a permeação do resveratrol durante a análise de lavabilidade. Ainda, a mucosa foi tratada com acetonitrila para total extração do resveratrol e determinação da quantidade de substância ativa penetrada e retida na mucosa.

Como controle, repetiu-se a análise de lavabilidade utilizando uma solução (denominada RESV) contendo resveratrol livre como marcador. Para a preparação da solução RESV, 10 mg de resveratrol e 2,5 mL de etanol foram adicionados em balão volumétrico de 25 mL, o qual permaneceu em ultrassom por 60 segundos. E então, completou-se o balão volumétrico com solução tampão pH 4,0. O resveratrol foi quantificado seguindo metodologia analítica descrita no item 3.4.5 *Teor de resveratrol na dispersão aquosa de CLN Pheetocare*.

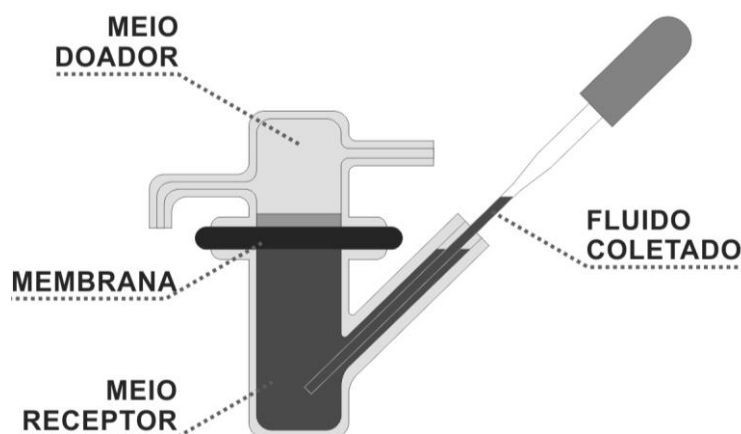
Para comparar as formulações contendo resveratrol encapsulado ou na forma livre a área sob a curva (AUC) obtida entre os tempos 20 e 240 minutos foi calculada pelo método trapezoidal.

3.6.2 Análise da permeação em mucosa vaginal suína

Semelhantemente, para o ensaio de permeação, também foi utilizada uma célula de Franz adaptada (Figura 6), com 2,5 mL de solução tampão (pH 4,0) no meio receptor. A célula foi montada com mucosa vaginal fresca, sobre a qual foram aplicados 100 µL da formulação. A célula de Franz permaneceu em banho a 37°C e agitação constante.

Uma quantidade de 40µL de solução tampão do meio receptor foram coletadas a cada 30 min, durante 4 horas. Em seguida, mais duas coletas foram feitas com intervalo de 60 minutos e a última coleta foi realizada após 120 minutos, totalizando 8 horas de experimento. A determinação da duração deste experimento ultrapassou o tempo de 4 horas, considerado adequado para permanência com o mesmo absorvente higiênico (FEBRASGO, 2009). Essa decisão permitiu verificar as consequências de um uso prolongado quanto à segurança da formulação proposta.

Figura 6 – Desenho esquemático da célula de Franz utilizada na análise de permeação.



Fonte: do autor.

Após cada coleta, a solução tampão foi imediatamente reposta (40 μ L) de modo que a condição *sink*¹⁵ do experimento fosse mantida. O resveratrol foi quantificado seguindo metodologia analítica descrita no item 3.4.5.

Como controle, repetiu-se a análise de permeação utilizando a solução RESV, a qual contém resveratrol livre como marcador. A solução controle foi preparada conforme relatado na análise de lavabilidade (item 3.6.1).

3.6.3 Análise da penetração em mucosa vaginal suína

O teor do resveratrol penetrado foi quantificado diretamente da mucosa vaginal utilizada para o experimento de permeação (FRANK et al., 2014). Após o tempo final de 480 minutos de experimento a mucosa vaginal foi removida da célula de Franz e tratada com 4 mL de acetonitrila durante 2 minutos. Em seguida, essas amostras foram mantidas em ultrassom durante 15 minutos a temperatura ambiente e submetidas à centrifugação para separar os resíduos de tecido a partir do sobrenadante. O fluido resultante foi filtrado por uma membrana de 0,45 μ m Millipore[®] e submetidos à quantificação utilizando metodologia analítica descrita no item 3.4.5.

¹⁵ Condição definida como 5 a 10 vezes do volume de saturação dentro de uma faixa de 500 a 100 mL (ABDOU, 1989).

3.6.4 Análise estatística

Os resultados obtidos nos diversos experimentos foram analisados estatisticamente por meio do teste de análise de variância (ANOVA), que permite identificar a existência (ou não) de diferenças significativas entre as médias dos valores observados em um conjunto de amostra. O nível de significância utilizado foi $\alpha = 0,05$. Quando identificadas diferenças significativas ($\alpha \leq 0,05$) para as análises experimentais realizadas, aplicou-se a comparação múltipla de médias para identificar quais os grupos de médias que diferem estatisticamente dos demais. Para tanto, foi utilizado o teste Pos-Hoc de Tukey ($\alpha = 0,05$). Todas as análises estatísticas foram efetuadas com ajuda do software IBM® SPSS® Statistics 24.0.

3.6.5 Ensaio de irritação em modelo de HET-CAM

A metodologia utilizada para avaliar o potencial de irritação da dispersão de CLN Pheetocare por HET-CAM foi descrita por Katzer e colaboradores (2014). O teste foi realizado em ovos no décimo dia de incubação, os quais foram doados pelo Departamento de Zootecnia (Faculdade de Agronomia, UFRGS). O ensaio é baseado na observação de fenômenos de alteração circulatória como hemorragia, vasoconstrição e coagulação, resultando em uma escala que considera o potencial de irritação da formulação.

As cascas dos ovos foram abertas onde há a câmara de ar, a membrana interna foi removida e 300 μL da formulação foram aplicados diretamente sobre a membrana cório-alantóide ($n = 5$). Considerando a opacidade da formulação, a membrana cório-alantóide foi lavada com uma solução salina 20 segundos após a aplicação e, então, o tempo da primeira ocorrência de fenômenos de irritação foi monitorado durante 300 segundos. Como controle positivo, foram testados 0,1 M NaOH, que provoca hemorragia e coagulação, e 0,1 % de lauril sulfato de sódio, que provoca vasoconstrição. Para o controle negativo, foi utilizado 0,9 % de NaCl.

A escala de irritação (EI) foi determinada de acordo com a equação 2:

$$EI = \frac{5(301-t_{hemorragia})}{300} + \frac{7(301-t_{vasoconstrição})}{300} + \frac{9(301-t_{coagulação})}{300} \quad (2)$$

As observações foram classificadas como não irritantes (0 - 0,9); ligeiramente irritante (1 - 4,9); moderadamente irritante (5 - 8,9); e extremamente irritante (9 - 21).

3.7 CARACTERIZAÇÃO DO TECIDO NÃO TECIDO (TNT)¹⁶

A caracterização do TNT teve como ponto de partida a análise da composição química, morfologia e taxa de capilaridade da cobertura de 6 protetores diários disponíveis no mercado. Esse estudo possibilitou estabelecer um parâmetro de comparação acerca das características do produto desenvolvido nesta pesquisa.

A análise da composição química foi realizada por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (FTIR/ATR). Para tanto, foi utilizado o equipamento modelo Spectrum 100, marca Perkin-Elmer[®], foram feitas 16 leituras cumulativas de cada amostra de material, em uma faixa de frequência entre 4000-650 cm⁻¹, no modo de transmissão.

A morfologia das coberturas foi analisada por meio de imagens obtidas pelo Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Foi utilizado o equipamento modelo TM 3000, marca Hitachi[®]. Foram feitas ampliações de 50 e 250 vezes. Essas imagens possibilitaram averiguar aspectos relacionados com a estrutura e fabricação dos materiais utilizados nos protetores diários.

Dentre os ensaios elaborados pela ABNT para a absorção de água, a taxa de capilaridade mostrou-se adequada para avaliar este parâmetro nos tecidos não tecidos. Tendo em vista que este material está diretamente em contato com a pele, é de fundamental importância que o líquido (seja muco, urina, sangue ou suor) flua rapidamente através da estrutura do tecido não tecido, evitando o acúmulo de

¹⁶ As informações contidas neste item estão publicadas em Pohlmann (2016) e em Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

umidade na região. A medição da taxa de capilaridade foi realizada com base na NBR-13735:2006 (ABNT, 2006). Neste método, amostras de TNT foram parcialmente imersas em água destilada e, durante os tempos de 10, 30 e 60 segundos, registrou-se a altura do líquido na seção emersa do tecido.

Depois de realizadas as análises nas coberturas dos protetores diários disponíveis no mercado, a caracterização foi feita no TNT que servirá como substrato para aplicação das formulações desenvolvidas na presente pesquisa. O tecido foi adquirido da empresa Ômega Fraldas, em Porto Alegre.

3.8 IMPREGNAÇÃO DAS DISPERSÕES AQUOSAS DE CLN NO TNT¹⁷

Conforme relatado no item 2.6, não há um método específico para a incorporação de nanopartículas lipídicas em tecido não-tecido. Desta forma, foi necessário testar diferentes processos a fim de verificar aquele mais adequado para a proposta desta pesquisa.

O procedimento de impregnação teve início com o tratamento prévio do tecido não-tecido. O tecido foi preparado conforme diretrizes da NBR-13735:2006. Assim, amostras de tecido com dimensões de 30 x 100 mm foram divididas em grupos identificados para posterior avaliação. O grupo 1 não passou por tratamento; o grupo 2 foi lavado com água destilada em ultrassom durante 12 horas (YANG et al., 2003; YANG; LIN, 2004; ABOU-OKEIL et al., 2012); e o grupo 3 foi lavado com solução de álcool 95% em agitador magnético durante 12 horas (CHEN et al., 2005 e CHEN et al., 2006). Todas as amostras permaneceram em temperatura ambiente durante 24 horas para, então, serem submetidas aos mesmos processos de impregnação. Desta forma, torna-se possível avaliar se o tratamento prévio resulta em diferenças na incorporação dos carreadores lipídicos nanoestruturados no TNT.

O primeiro método de impregnação foi o banho de imersão realizado conforme descrito por Assumpção (2012) e Rossi (2012). As amostras de TNT foram imersas em 50 mL de dispersão aquosa de CLN e mantidas sob agitação magnética.

¹⁷ As informações contidas neste item estão publicadas em Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

Para Assumpção (2012), o tempo necessário para impregnação foi de 0,25 horas, enquanto que para Rossi (2012), 24 horas.

O segundo método ensaiado foi aspersão por ar comprimido (BERETTA et al., 2016). Para tanto, a formulação foi utilizada com sua concentração original e 8 mL foram aspergidos sobre as amostras com uma pressão de 116 psi (8 bar). As amostras foram secas em temperatura ambiente por 24 horas.

Os procedimentos de impregnação foram realizados utilizando os CLN e os CLN Pheetocare. Para fins de comparação amostras de TNT também foram impregnadas com suspensões de controle, as quais continham os ingredientes ativos livres dos CLN Alfa-b (manteiga de cupuaçu, óleo de melaleuca, alfa-bisabolol e ácido cítrico) e dos CLN Pheetocare (manteiga de cupuaçu, óleo de melaleuca, alfa-bisabolol, ácido cítrico, resveratrol e óleo de semente de uva).

A impregnação do TNT com a dispersão aquosa de CLN Pheetocare possibilita a obtenção de um absorvente íntimo cuja interface (tela polimérica, vide Figura 1) é enriquecida com componentes que ajudam na manutenção da saúde íntima e do bem estar da mulher. Para a produção dos lenços umedecidos, cujo substrato para impregnação também é o TNT, foi utilizada a formulação do sabonete, conforme descrito a seguir.

3.9 PRODUÇÃO DOS LENÇOS UMEDECIDOS

Para a produção dos lenços umedecidos, a formulação de sabonete mais estável (indicada no item *4.4 Produção e estabilidade do sabonete*) foi impregnada no tecido não-tecido. O procedimento de impregnação foi realizado conforme o método mais adequado para os materiais utilizados nesta pesquisa, conforme descrito no item *4.8 Impregnação da dispersão aquosa de CLN Pheetocare no TNT*.

Após verificar a viabilidade da produção de uma dispersão aquosa de CLN com propriedades de origem vegetal, bem como o método mais adequado para impregnação dessa formulação em produtos para higiene íntima feminina, foram desenvolvidas as embalagens do sabonete, dos protetores diários e dos lenços umedecidos. Para a criação deste material gráfico, foram utilizados como referência aspectos relacionados à mulher e à natureza conforme consta no Apêndice A.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TESTE PILOTO: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTABILIDADE DAS DISPERSÕES AQUOSAS DE CLN

A composição das dispersões de CLN a ser empregada nos produtos desenvolvidos neste trabalho teve como ponto de partida a seleção da manteiga (cacau ou cupuaçu) e a utilização, ou não, de ácido cítrico. Sendo assim, foram conduzidos testes de estabilidade nos tempos 0, 15 e 30 dias, a fim de avaliar as características físico-químicas de diferentes formulações.

A Tabela 9 relaciona as características de diâmetro médio e *span* das formulações de carreadores lipídicos nanoestruturados. O diâmetro médio baseado no volume (D [4,3]) foi utilizado como parâmetro para avaliação da distribuição de tamanho médio das partículas e o *span* como representativo da distribuição granulométrica.

Tabela 9 – Diâmetro médio das partículas e distribuição granulométrica das formulações NLC, NLCc, NLG e NLGc.

	0 dias		15 dias		30 dias	
	D [4,3] (nm)	<i>span</i>	D [4,3] (nm)	<i>span</i>	D [4,3] (nm)	<i>span</i>
NLC	195±0,57	1,86±0,002	200	1,86±0,005	199±0,57	1,86±0,002
NLCc	193	1,85±0,003	196	1,87±0,008	198±0,57	1,87±0,004
NLG	185±0,57	1,78±0,004	207±0,57	2,01±0,004	186±0,57	1,78±0,001
NLGc	187±0,57	1,80±0,001	210±0,57	2,04±0,004	186±0,57	1,78±0,001

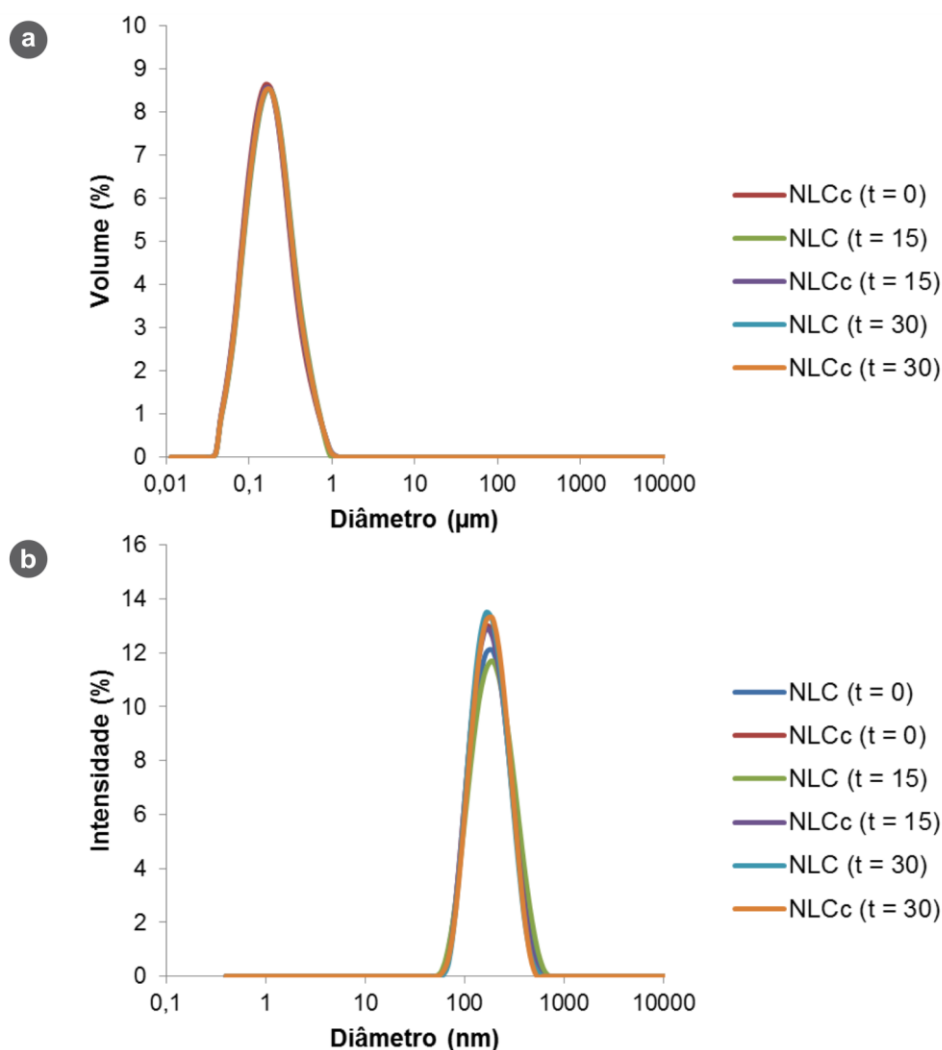
Obs: As análises foram realizadas nos tempos de 0, 15 e 30 dias. Os resultados representam a média e o desvio padrão da medida de 3 lotes. A sigla D [4,3] refere-se ao diâmetro médio baseado no volume e o valor é dado em nanômetros. O *span* refere-se à distribuição granulométrica. A sigla NLC refere-se aos nanocarreadores lipídicos de *Theobroma cacao L.*; NLCc, nanocarreadores lipídicos de *Theobroma cacao L.* com ácido cítrico; NLG, nanocarreadores lipídicos de *Theobroma grandiflorum*; e NLGc, nanocarreadores lipídicos de *Theobroma grandiflorum* com ácido cítrico. Fonte do autor.

Os valores de diâmetro médio (D [4,3]) obtidos com o teste de estabilidade confirmam que, durante o período analisado, as partículas da formulação se mantêm estáveis e em escala nanométrica, ou seja, entre 50 e 1000 nm (ZUR MÜHLEN; SCHWARZ; MEHNERT, 1998). Essa informação é corroborada pela Figura 7. Além

disso, esses valores estão muito próximos aos resultados descritos por autores que também produziram nanopartículas lipídicas: Colomé e colaboradores (2010) obtiveram partículas com 144 nm; Assumpção (2012), 133 nm; e Svetlichny e colaboradores (2015), 130 nm.

A distribuição do tamanho de partículas dos nanocarreadores lipídicos foi determinada por difratometria de laser (Figura 7a) e por espalhamento de luz dinâmico (Figura 7b). As formulações produzidas com manteiga de cacau, com e sem ácido cítrico, apresentaram um diâmetro médio estável ao longo do tempo: a distribuição permaneceu monomodal, sem a presença de populações micrométricas.

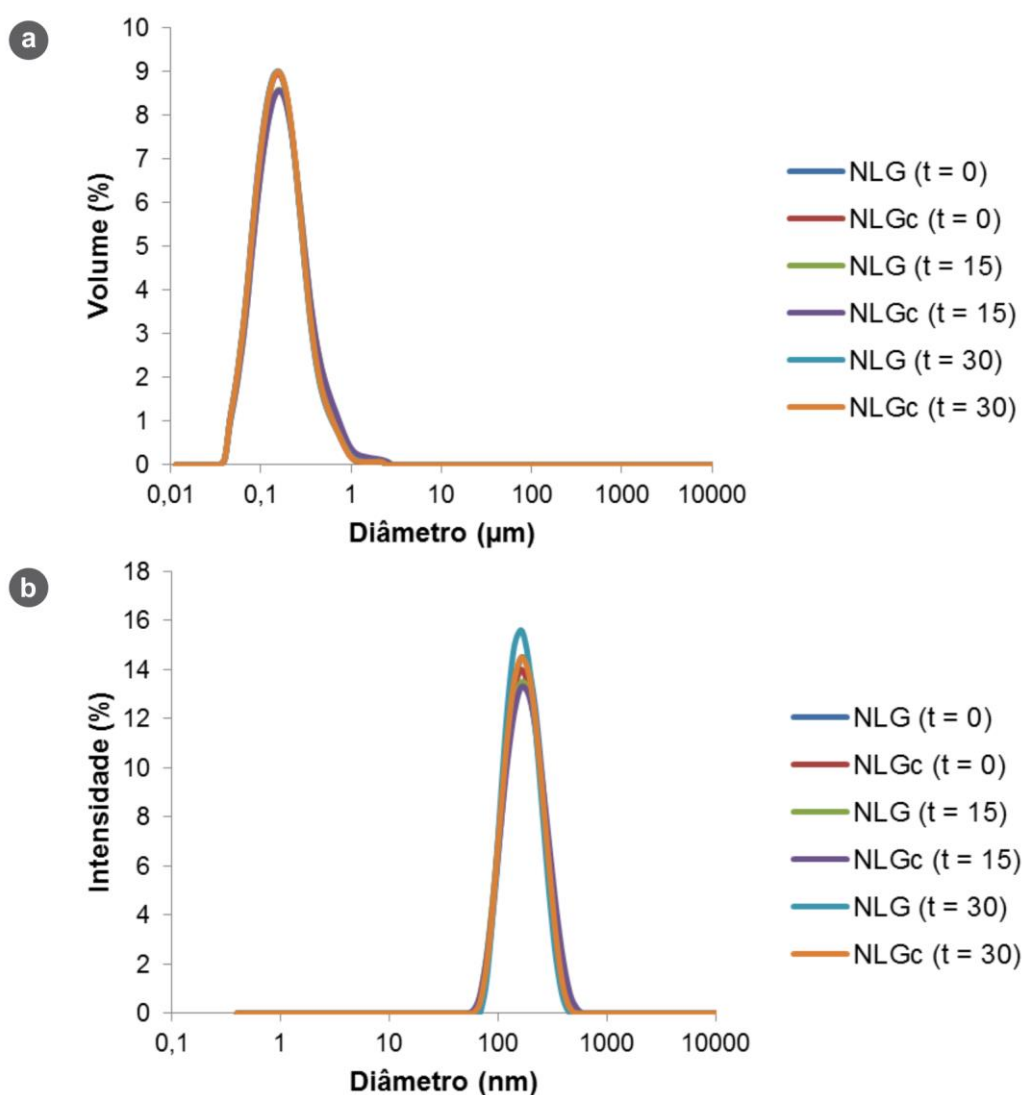
Figura 7 – Distribuição do tamanho de partícula dos nanocarreadores lipídicos de manteiga de cacau.



O diâmetro médio determinado por difratometria de laser (a), sempre inferior a 1 µm, indica que não há presença de populações micrométricas. E a técnica de espalhamento de luz (b), em escala nanométrica, indica que o diâmetro médio permaneceu estável durante o período de análise. As formulações com ácido cítrico (NLCc) e sem ácido cítrico (NLC) foram avaliadas após 0, 15 e 30 dias do preparo. Os resultados representam a média da medida de 3 lotes. Fonte do autor.

Os nanocarreadores lipídicos produzidos com manteiga de cupuaçu também tiveram a distribuição do tamanho de partículas avaliada por difratometria de laser e espalhamento de luz (Figura 8). As formulações apresentaram um diâmetro médio estável ao longo do tempo: a distribuição permaneceu monomodal, sem a presença de populações micrométricas.

Figura 8 – Distribuição do tamanho de partícula dos nanocarreadores lipídicos de manteiga de cupuaçu.



O diâmetro médio determinado por difratometria de laser (a), sempre inferior a 1 µm, indica que não há presença de populações micrométricas. E a técnica de espalhamento de luz (b), em escala nanométrica, indica que o diâmetro médio permaneceu estável durante o período de análise. As formulações com ácido cítrico (NLGc) e sem ácido cítrico (NLG) foram avaliadas após 0, 15 e 30 dias do preparo. Os resultados representam a média da medida de 3 lotes. Fonte do autor.

Depois de avaliadas as características físico-químicas das formulações com dois tipos diferentes de manteiga, selecionou-se a manteiga de cupuaçu como componente do carreador lipídico nanoestruturado a ser utilizado nesta pesquisa. Conforme descrito nos itens 2.4.1 e 2.4.2, ambas as manteigas possuem em sua composição substâncias com ação hidratante. Entretanto, no que tange produtos para higiene íntima feminina, até o presente momento, foi depositada uma patente que utiliza a manteiga de cacau (SOLAGRAN LTD, 2000) e ainda não há registro da utilização da manteiga de cupuaçu¹⁸. Portanto, este dado representa um fator de inovação da formulação proposta na presente pesquisa.

Quanto aos demais componentes, a adição de ácido cítrico não comprometeu a estabilidade das formulações. Sendo assim, esta substância foi incorporada à solução para atuar como regulador de pH. Além do ácido cítrico, foi acrescentado o alfa-bisabolol, pois as propriedades deste álcool sesquiterpeno, descritas no item 2.2.2, enriquecem as características dos produtos de higiene íntima feminina em desenvolvimento.

4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTABILIDADE DA DISPERSÃO AQUOSA DE CLN ALFA-B¹⁹

Depois de definir a manteiga de cupuaçu como matriz lipídica e de incrementar a formulação com alfa-bisabolol, foi realizada uma série de ensaios para avaliar as características físico-químicas da dispersão aquosa de CLN denominado Alfa-b. A Tabela 10 apresenta os dados referentes à estabilidade dessa formulação.

¹⁸ Para a obtenção desses dados, foi utilizado o banco de patentes Derwent Innovations IndexSM. As palavras-chaves utilizadas foram: hygiene, cacau, gradiflorum. A busca foi efetuada em 14/08/2015.

¹⁹ As informações contidas neste item estão publicadas em Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

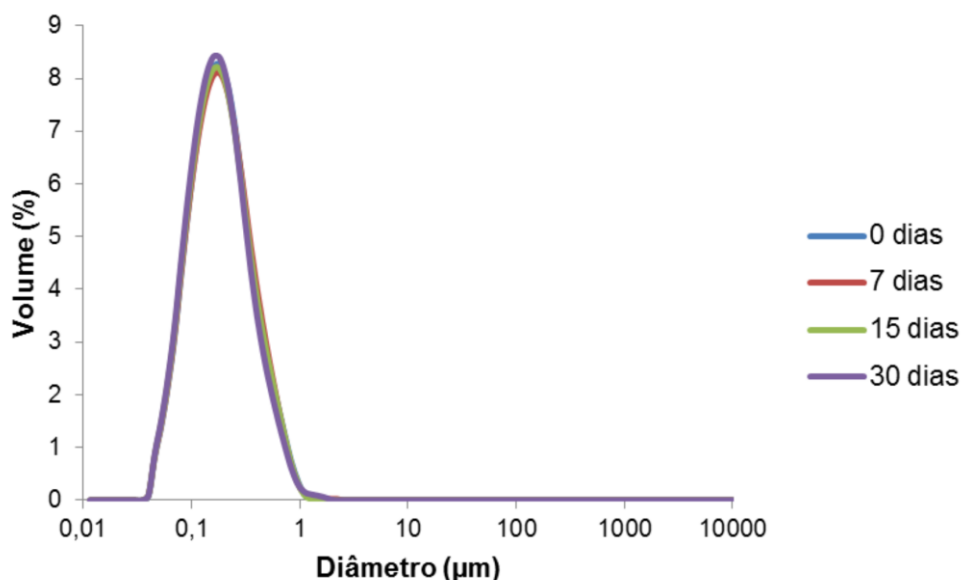
Tabela 10 – Estabilidade físico-química da dispersão de CLN Alfa-b.

	D [4,3] (nm)	span	PZ (mV)	z-average (nm)	PDI	pH
0 dias	195,5±27,22	1,94±0,12	-8,37±0,74	169±4,22	0,15±0,03	2,28±0,15
7 dias	200±22,86	1,97±0,09	-7,03±0,99	173,5±6,30	0,15±0,02	2,54±0,06
15 dias	193,5±27,07	1,95±0,12	-7,42±0,89	167,06±4,20	0,15±0,02	2,26±0,18
30 dias	191,5±24,82	1,91±0,16	-6,09±0,95	169,3±2,47	0,17±0,006	2,48±0,02

Obs: As análises foram realizadas nos tempos de 0, 15 e 30 dias. Os resultados representam a média e o desvio padrão da medida de 3 lotes. Traduzido de Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

De acordo com os dados obtidos por difratometria de laser, pode-se observar que não houve uma variação significativa ao longo do período de análise, sendo um indicio de boa estabilidade do sistema. O diâmetro médio baseado no volume (D[4,3]) e o *span* apresentam uma distribuição monomodal, sem a presença de populações micrométricas, dado que é corroborado pela Figura 9.

Figura 9 – Distribuição do tamanho de partícula por difratometria de laser da dispersão de CLN Alfa-b.



As formulações foram avaliadas após 0, 7, 15 e 30 dias do preparo. Os resultados representam a média da medida de 3 lotes. Traduzido de Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

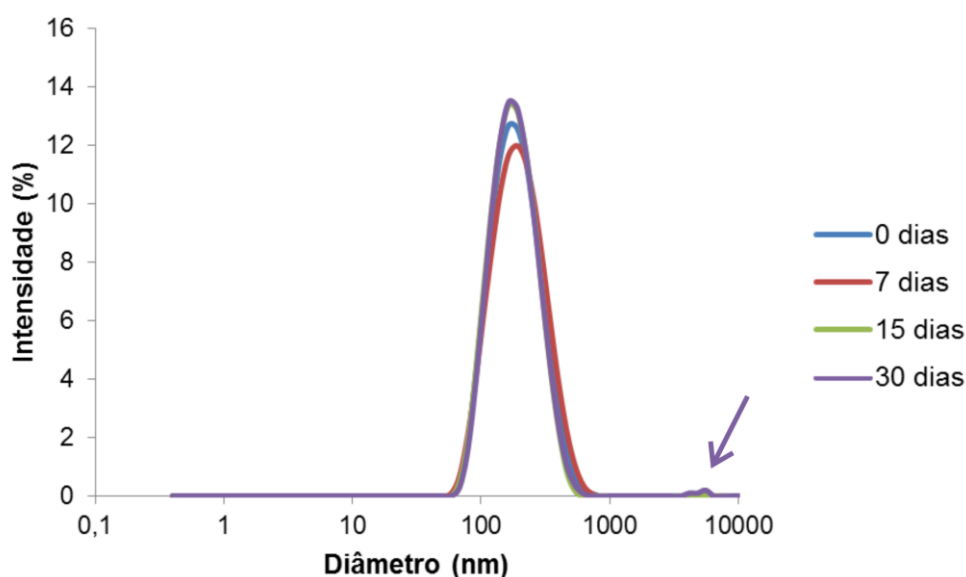
O valor do pH apresentou uma variação pouco significativa durante as quatro análises realizadas. De acordo com Cruz (2009), o valor do pH da região íntima feminina influencia na luta contra micro-organismos prejudiciais à saúde.

Durante o período em que a mulher não está menstruada, o pH vulvovaginal deve permanecer entre 3,5 e 4,5. Como as medições ficaram em torno de 2,4, uma nova formulação, denominada CLN Pheetocare (item 4.3), contendo menor quantidade de ácido cítrico foi produzida e avaliada.

Quanto ao diâmetro de partículas (z-average), verificado por espalhamento de luz dinâmico, as formulações apresentaram, em média, 170 nm e índice de polidispersão (PDI) de 0,15, indicando homogeneidade na distribuição de tamanho de partículas das amostras.

O valor do potencial zeta das formulações variou de -8,37 a -6,09 mV durante o período das análises. De acordo com Schaffazick e colaboradores (2003), valores absolutos entre 5 e 20 mV são aceitáveis a curto prazo, mas podem resultar em rápida agregação de partículas. Esse resultado pode ser observado no gráfico obtido por espalhamento de luz (Figura 10), no qual a análise da distribuição do tamanho de partícula realizada aos 30 dias apresenta uma distribuição bimodal indicando a presença de populações micrométricas. O estudo de estabilidade foi realizado para conhecer o intervalo de tempo máximo entre a produção e a aplicação dos carreadores lipídicos nanoestruturados no tecido.

Figura 10 – Distribuição do tamanho de partícula por espalhamento de luz da dispersão aquosa de CLN Alfa-b.



As formulações foram avaliadas após 0, 7, 15 e 30 dias do preparo. Os resultados representam a média da medida de 3 lotes. O gráfico gerado aos 30 dias apresenta uma distribuição bimodal (pico indicado pela seta), a qual representa a presença de populações micrométricas. Traduzido de Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTABILIDADE DA DISPERSÃO AQUOSA DE CLN PHEETOCARE

Como formulação final proposta nesta pesquisa ficou determinada que a matriz lipídica fosse de manteiga de cupuaçu e que os componentes ativos seriam o óleo de melaleuca, o alfa-bisabolol, o óleo de semente de uva, o resveratrol e o ácido cítrico. Os ensaios apresentados nesta seção referem-se à avaliação das características físico-químicas da dispersão aquosa denominada Pheetocare. Para análise da estabilidade das partículas, foram realizadas medidas de diâmetro médio (difração de laser e espalhamento de luz dinâmico), *span*, índice de polidispersão (PDI), pH e teor da formulação durante os tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias (Tabela 11). Todas as análises foram executadas por triplicata de lote.

Tabela 11 – Estabilidade físico-química da dispersão aquosa de CLN Pheetocare.

	D [4,3] (nm)	<i>span</i>	z-average (nm)	PDI	pH	Teor
0 dias	274±5	1,71±0,14	158,5±1,9	0,15±0,02	4,41±0,09	0,44±0,08
7 dias	260±8	1,58±0,08	171,7±12,3	0,22±0,01	4,37±0,05	0,44±0,08
14 dias	238±5	1,73±0,17	165,1±6,7	0,19±0,03	4,36±0,04	0,39±0,03
21 dias	241±4	1,68±0,12	168,0±13,9	0,20±0,04	4,35±0,04	0,38±0,03
28 dias	250±7	1,78±0,24	163,3±15,6	0,20±0,08	4,40±0,08	0,39±0,04

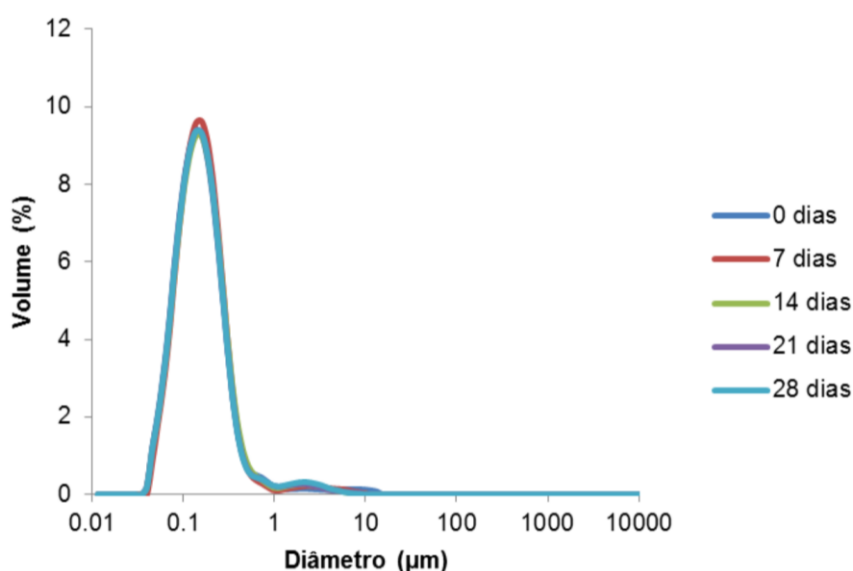
As análises foram realizadas nos tempos de 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Os resultados representam a média e o desvio padrão da medida de 3 lotes.

O valor de diâmetro médio baseado no volume (D [4,3]) obtido no dia 0 (274 ± 5 nm) indica que as partículas da formulação se mantêm estáveis e em escala nanométrica, ou seja, entre 50 e 1000 nm. Além disso, esse valor também está próximo ao obtido por Colomé e colaboradores (2010): 144 ± 4 nm.

Quanto ao índice de polidispersão (PDI), o valor obtido na primeira análise (dia 0) foi de 0,15 ± 0,02. Assim como o diâmetro médio baseado no volume (D [4.3]), o PDI também está próximo ao valor apresentado por Colomé e colaboradores (2010), o qual foi de aproximadamente 0,2, indicando que a formulação desenvolvida apresenta distribuição de diâmetro estreita.

Observa-se que o valor do teor de resveratrol apresentou pouca variação permanecendo em torno de 0,4 mg/mL. Esse resultado indica a presença do componente ativo durante o período de armazenamento. De acordo com os dados obtidos por difratometria de laser, pode-se observar que não houve uma variação significativa ao longo do período de análise, sendo um indício de estabilidade física do sistema. O diâmetro médio baseado no volume (D[4,3]) e o *span* apresentam uma distribuição majoritariamente monomodal, indicando a presença da população nanométrica, dado observado na Figura 10.

Figura 11 – Distribuição do tamanho de partícula por difratometria de laser da dispersão aquosa de CLN Pheetocare



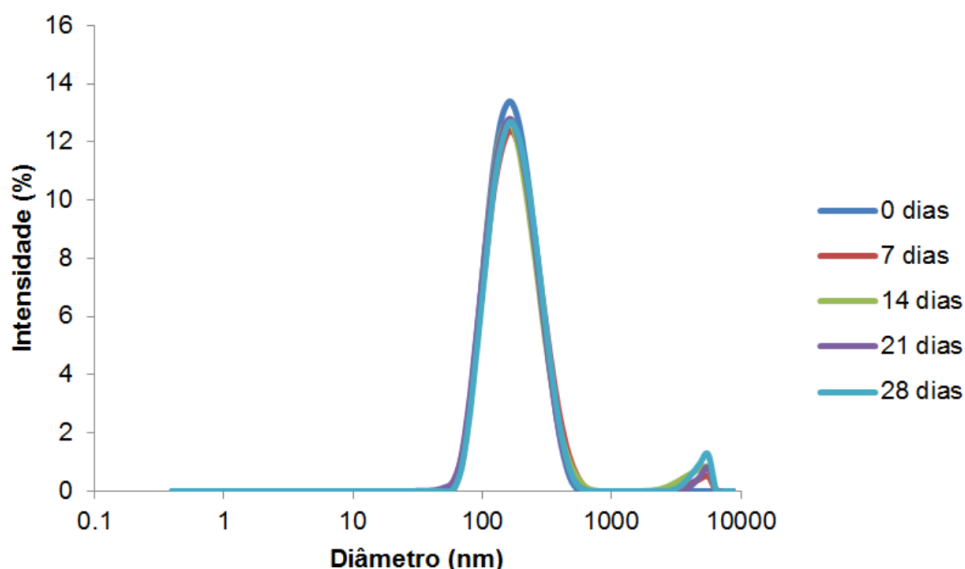
As formulações foram avaliadas após 0, 7, 14, 21 e 28 dias do preparo. Os resultados representam a média da medida de 3 lotes. Fonte: do autor.

O valor do pH foi constante ao longo do intervalo de tempo analisado, permanecendo em torno de 4,37. De acordo com Cruz (2009), esse valor é satisfatório para aplicação em produtos para higiene íntima feminina, o qual deve se manter entre 3,5 e 4,5. Portanto, a concentração determinada está de acordo com a proposta do trabalho.

O z-average verificado pela técnica de espalhamento de luz dinâmico foi, em média, 165 nm \pm 10 e índice de polidispersão (PDI) de 0,19 \pm 0,04, indicando homogeneidade na distribuição de tamanho de partículas das amostras. Essa informação é corroborada pelo gráfico da distribuição do tamanho de partícula

(Figura 12), o qual indica a presença da população nanométrica durante todo o período de análise.

Figura 12 – Distribuição do tamanho de partícula por espalhamento de luz da dispersão aquosa de CLN Pheetocare.



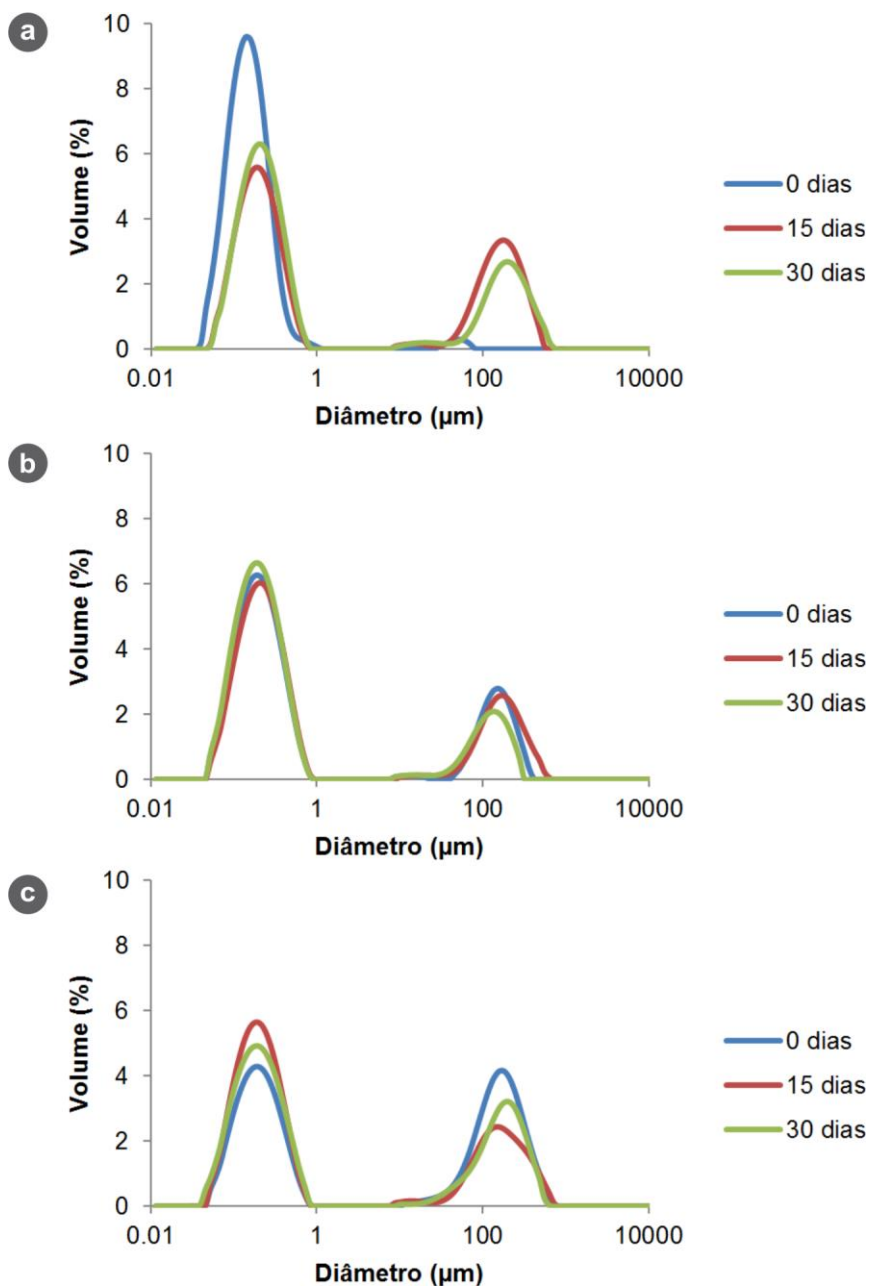
As formulações foram avaliadas após 0, 7, 14, 21 e 28 dias do preparo. Os resultados representam a média da medida de 3 lotes. Fonte: do autor.

O estudo da estabilidade da dispersão aquosa de CLN Pheetocare demonstrou que dentro do período avaliado (28 dias) não houve alteração das características físico-químicas da formulação.

4.4 PRODUÇÃO E ESTABILIDADE DO SABONETE

Para a produção do sabonete, foram incorporados à dispersão aquosa de CLN Pheetocare 0,5 % (p/p) de hidroxietilcelulose e diferentes concentrações de lauril éter sulfosuccinato de sódio. A determinação da concentração mais adequada foi determinada pela análise da estabilidade com base na distribuição do tamanho de partícula (medido por difratometria de laser). Essa análise teve o intuito de verificar se havia, ou não, presença de população micrométrica no sabonete. Amostras contendo 1, 2 e 5 % (p/p) de tensoativo foram avaliadas nos tempos 0, 15 e 30 dias (Figura 13).

Figura 13 – Distribuição do tamanho de partícula por difratometria de laser da formulação do sabonete.



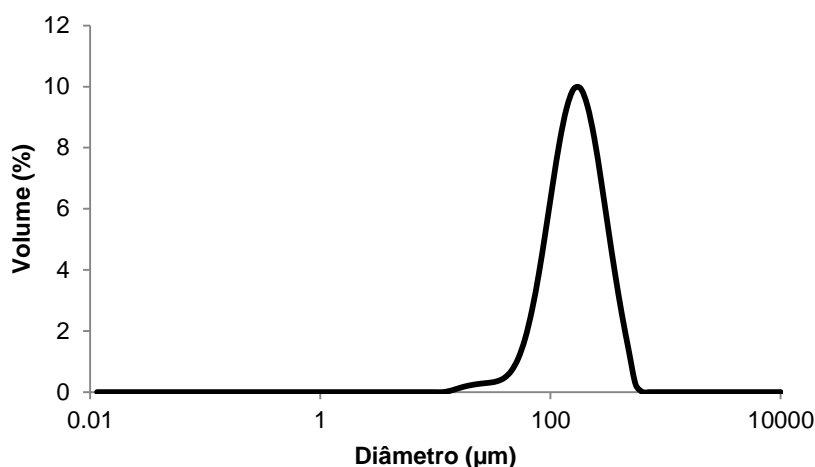
Os resultados representam a estabilidade da formulação contendo 1 % (a), 2 % (b) e 5 % (c) [p/p] de lauril éter sulfossuccinato de sódio. As formulações foram avaliadas nos tempos 0, 15 e 30 dias.

Fonte: do autor.

As três formulações apresentam uma distribuição bimodal indicando a presença tanto dos carreadores lipídicos nanoestruturados (cujas propriedades físico-químicas se mantiveram durante os 30 dias de análise), quanto de uma população micrométrica.

Por estar presente desde a primeira análise (dia 0), associa-se esta configuração a características dos componentes incorporados à dispersão. Essa constatação é corroborada pelo gráfico de distribuição do tamanho de partícula de uma formulação do sabonete sem a dispersão aquosa de CLN Pheetocare no qual se observa apenas a população micrométrica (Figura 14).

Figura 14 – Distribuição do tamanho de partícula por difratometria de laser da formulação do sabonete sem a dispersão aquosa de CLN Pheetocare.



O gráfico corresponde à média de três análises da formulação contendo 0,5 % (p/p) de hidroxietilcelulose e 5 % (p/p) de lauril éter sulfossuccinato de sódio diluídos em água. Fonte: do autor.

De acordo com Emfal (2015) e Mapric (2016), a concentração usual do lauril éter sulfossuccinato de sódio em formulações de xampus e sabonetes líquidos varia entre 8 e 30% (p/p). Portanto, no intuito de se aproximar mais com a concentração recomendada da literatura e, ao mesmo tempo, sem comprometer a integridade estrutural das partículas, ficou estabelecido que a concentração de 5 % (p/p) deste tensoativo é a adequada para integrar a formulação do sabonete.

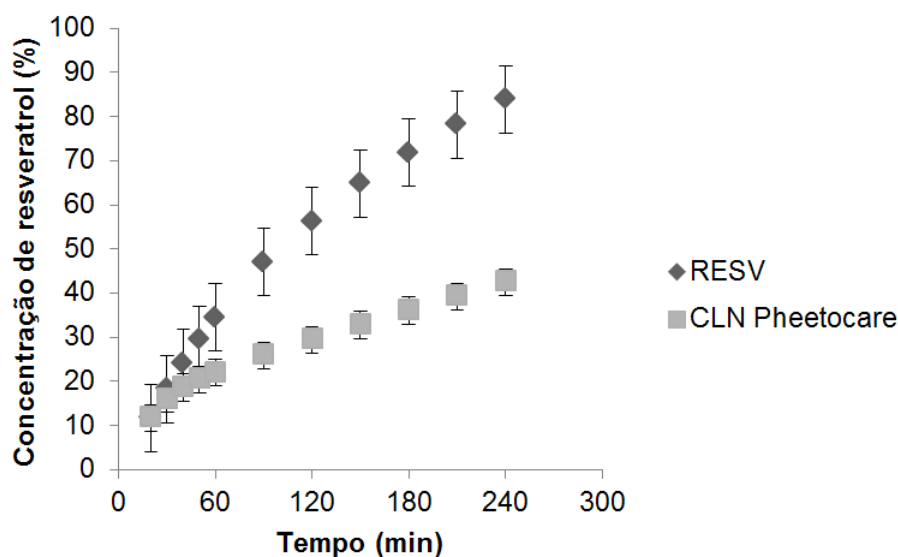
4.5 ENSAIOS *IN VITRO* DA DISPERSÃO AQUOSA DE CLN PHEETOCARE

4.5.1 Análise da lavabilidade em mucosa vaginal suína

Com a análise de variância (ANOVA) utilizada no experimento de lavabilidade das amostras de CLN Pheetocare e de solução RESV, foi possível

identificar diferenças significativas ($p < 0,02$) entre as formulações para os tempos de 10 e 120 min (Figura 15). O resultado obtido com a quantificação do teor por CLAE indica que as duas formulações apresentam características diferentes no que tange à adesividade na mucosa vaginal.

Figura 15 – Porcentagem de resveratrol lavado durante o experimento.



Foram consideradas diferenças significativas para um valor- $p < 0,02$. A sigla RESV refere-se à solução contendo resveratrol livre; CLN refere-se à dispersão aquosa de CLN Pheetocare. Valores obtidos com a média de 3 amostras ($n = 3$). Fonte: do autor.

O perfil de resveratrol lavado para a dispersão aquosa de CLN Pheetocare foi significativamente menor que o perfil de resveratrol livre. Ao comparar as AUC obtidas, observa-se diferença na quantidade percentual de resveratrol lavado, a formulação contendo o resveratrol encapsulado apresentou AUC de $5489,59 \pm 879,03$, já o resveratrol livre apresentou AUC estatisticamente superior ($p < 0,04$): $13509,47 \pm 3130,20$. Isso quer dizer que quando o resveratrol está contido em nanopartículas permanece mais tempo em contato com a mucosa vaginal do que na sua forma livre, uma vez que o resveratrol é menos lavado durante o experimento.

Um dos aspectos importantes para determinação da adesividade de formulações na mucosa é a presença do fluxo, que é o responsável pela remoção das formulações (VALENTA et al., 2005; NEVES et al., 2015). Nesse sentido, o trabalho de Frank e colaboradores (2014) demonstra que nanocápsulas poliméricas interagem de maneira mais eficiente com a mucosa vaginal do que em comparação

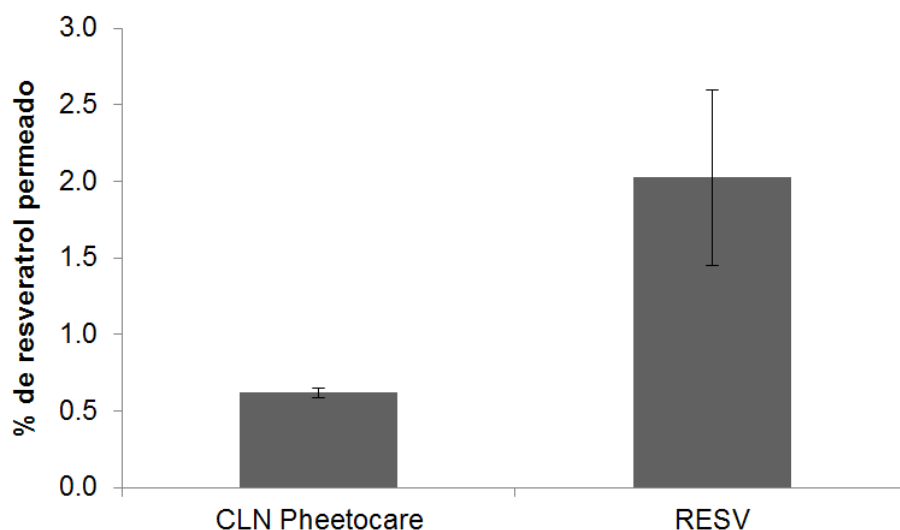
com o fármaco livre. De maneira semelhante, Contri e colaboradores (2014) observaram o mesmo efeito em pele suína. Recentemente, Chaves e colaboradores (2017) avaliaram a influência da carga de superfície de nanocápsulas produzidas com diferentes polímeros (poly(ϵ -caprolactone) e Eudragit[®] RS 100) e observaram que nanocápsulas de Eudragit RS apresentaram melhor adesividade à mucosa sublingual. Os autores atribuem esse resultado à interação do grupamento catiônico que esse polímero apresenta. Ainda, Frank e colaboradores (2017) observaram que para o fármaco interagir de maneira mais eficiente com a mucosa ele precisa apresentar uma alta taxa de encapsulação, ou seja, o fármaco deve estar contido nas nanocápsulas poliméricas, caso contrário ele tende a se comportar como fármaco livre.

Embora os trabalhos acima citados tenham utilizado outros tipos de nanopartículas, de maneira similar os resultados obtidos na presente pesquisa também apontam a capacidade de adesão da formulação proposta sobre a mucosa. Este resultado pode ser explicado pela constituição da dispersão aquosa que possui, além da matriz lipídica, componentes como o óleo essencial de melaleuca e o óleo de semente de uva. A lipofilicidade desses ativos faz com que a dispersão não ultrapasse o epitélio estratificado pavimentoso, permanecendo, em maior quantidade, retida nas camadas mais superficiais da mucosa. Por se tratar de um insumo cosmético, este é um resultado positivo uma vez que deve ter alta eficácia na pele e baixa toxicidade sistêmica (LEONARDI, 2004).

Após 4 horas de experimento, uma alíquota de 1 mL do meio receptor (contendo a solução tampão pH 4,0) foi coletada e quantificada em CLAE, conforme a metodologia previamente descrita (item 3.4.5). A Figura 16 demonstra a quantidade de resveratrol que permeou através da mucosa vaginal quando o fluxo vaginal foi levado em consideração.

Observa-se que a dispersão aquosa de CLN Pheetocare apresenta valores de permeação mais baixos do que a formulação livre RESV. Esse resultado satisfatório incrementa o já exposto na Figura 15, pois não há intenção que os ingredientes ativos da formulação proposta atinjam camadas mais profundas da mucosa, como o córion papilar, bem como as camadas muscular e adventícia.

Figura 16 – Permeação de resveratrol levando em consideração o fluido vaginal aos 240 minutos de experimento.



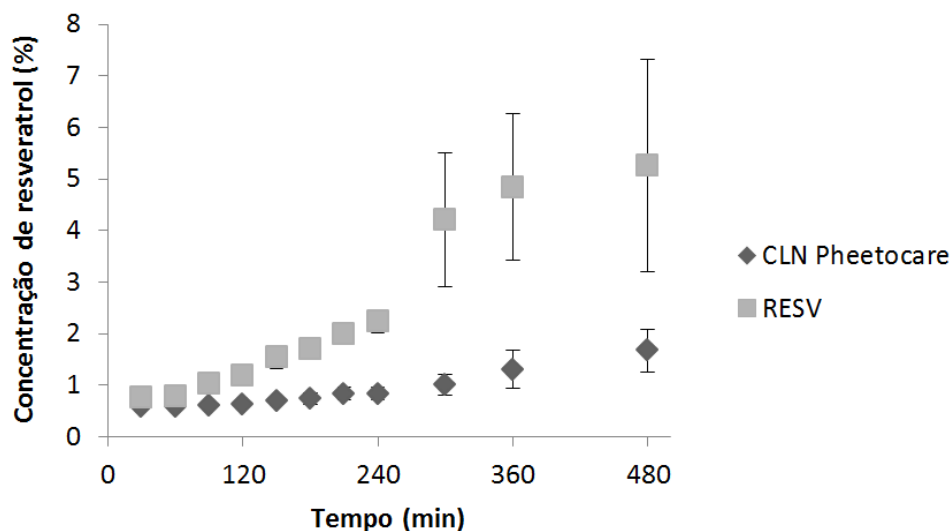
A sigla RESV refere-se à solução contendo resveratrol livre; CLN refere-se à dispersão aquosa de CLN Pheetocare. Valores obtidos com a média de 3 amostras (n = 3). Fonte: do autor.

4.5.2 Análise da permeação em mucosa vaginal suína

A avaliação da permeação *in vitro* à mucosa vaginal possibilitou gerar perfis da dispersão aquosa de CLN Pheetocare e da solução controle RESV (Figura 17). O tempo de duração do experimento foi de 8 horas. Esse valor corresponde ao dobro do indicado para a permanência com o mesmo absorvente (FEBRASGO, 2009) e foi determinado no intuito de avaliar a segurança do sistema proposto.

Os dados obtidos com a análise de variância indicam que foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,99$) entre as formulações para os tempos de 300, 360 e 480 min. A quantificação do teor de resveratrol por CLAE demonstrou que para todos os intervalos de tempo obteve-se um percentual maior de resveratrol para a solução controle RESV. Esse resultado é positivo, pois indica a segurança da dispersão aquosa de CLN Pheetocare. Conforme discutido anteriormente, a intenção na presente pesquisa é que este insumo permaneça aderido à camada mais superficial da mucosa. No trabalho de Frank e colaboradores (2014), por exemplo, foi constatada uma maior interação das nanocápsulas poliméricas com a mucosa. Para os referidos autores, esse era um resultado almejado, uma vez que era desenvolvido um medicamento, e esperado, já que havia hidrogel de quitosana incorporado à formulação.

Figura 17 – Porcentagem de resveratrol permeado durante o experimento.



Diferenças estatísticas foram encontradas para um valor- $p < 0,99$. A sigla RESV refere-se à solução contendo resveratrol livre; CLN refere-se à dispersão aquosa de CLN Pheetocare. Valores obtidos com a média de 3 amostras ($n = 3$). Fonte: do autor.

A Tabela 12 apresenta a quantificação de resveratrol (em μg) aos 240 minutos em ambos os experimentos de lavabilidade e permeação levando em consideração o fluxo do fluido vaginal. Os dados obtidos com a análise de variância indicam que foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,387$) entre as formulações em relação à permeação da solução controle (RESV). Quando comparados com a solução controle (RESV), os dados obtidos com a dispersão aquosa de CLN Pheetocare indicam tanto uma baixa lavabilidade, e consequentemente alta adesão, como uma baixa permeação. Esses indicadores são satisfatórios uma vez que estão em consonância com os objetivos propostos nesta pesquisa.

Tabela 12 – Quantidade de resveratrol lavado e permeado após 240 min.

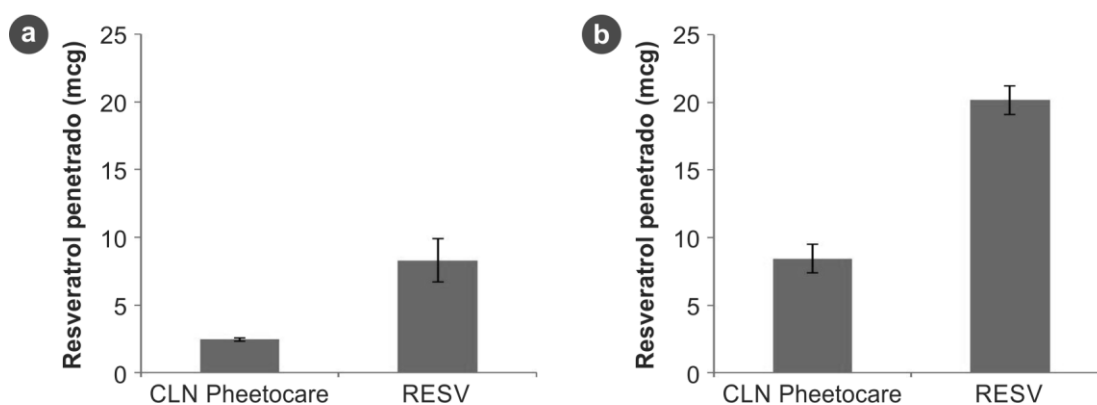
	Lavabilidade	Permeação
CLN Pheetocare	0,62±0,03 μg de resveratrol	0,83±0,12 μg de resveratrol
RESV	2,02±0,58 μg de resveratrol	2,23±0,21 μg de resveratrol

Diferenças estatísticas foram encontradas para um valor- $p < 0,387$. A sigla RESV refere-se à solução contendo resveratrol livre; CLN refere-se à dispersão aquosa de CLN Pheetocare. Valores obtidos com a média de 3 amostras ($n = 3$). Fonte: do autor.

4.5.3 Análise da penetração em mucosa vaginal suína

A penetração *in vitro* na mucosa foi determinada pela técnica de corte do tecido vaginal e posterior extração e quantificação de resveratrol. Nesse experimento, foram utilizados os mesmos substratos submetidos à análise de lavabilidade e permeação (itens 4.5.1 e 4.5.2, respectivamente) quando a presença do fluxo vaginal era levada em consideração ou não. A Figura 18 apresenta as quantidades totais de resveratrol penetradas no tecido.

Figura 18 – Quantidade de resveratrol penetrada.



Os gráficos representam os dados obtidos após o experimento de lavabilidade (a) e após o experimento de permeação (b). A sigla RESV refere-se à solução contendo resveratrol livre; CLN refere-se à dispersão aquosa de CLN Pheetocare. Valores obtidos com a média de 3 amostras (n = 3). Fonte: do autor.

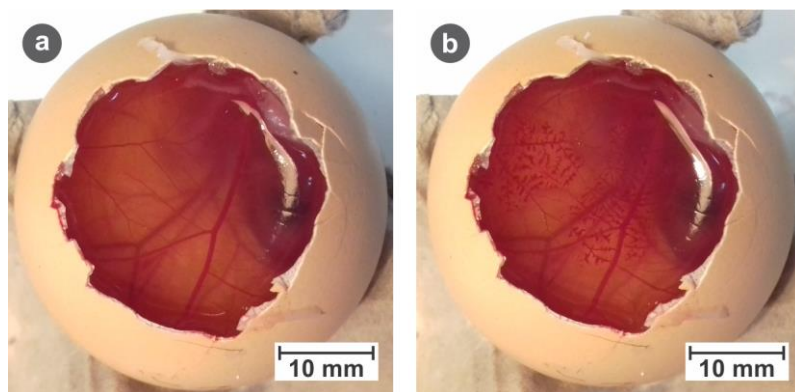
Ao comparar os gráficos de penetração, observa-se que após o experimento de permeação (Figura 18b) uma quantidade maior de resveratrol foi quantificada na mucosa vaginal. Esse resultado pode ser explicado por dois motivos: (i) o tempo de duração do experimento de permeação foi superior ao de lavabilidade; e (ii) o experimento de lavabilidade apresentou valores menores de resveratrol penetrado, pois, neste caso, leva-se em consideração a ação de remoção das formulações pelo fluido vaginal. Neste sentido, já era esperado que as quantidades de resveratrol penetrado fossem divergentes. Os dados obtidos com a análise de variância não indicaram diferenças significativas ($p < 0,144$) entre as formulações nos experimentos realizados.

Não obstante, também era esperado que a quantidade de resveratrol contido na dispersão aquosa de CLN Pheetocare fosse inferior à quantidade contida na solução controle RESV. Esse resultado confirma que a dispersão aquosa de CLN Pheetocare permanece, em maior parte, aderido à camada mais externa da mucosa vaginal, conforme discutido no item 4.5.1. Sendo assim, de acordo com os dados obtidos *in vitro*, esta formulação pode ser considerada segura para a aplicação em produtos de higiene íntima feminina.

4.5.4 Ensaio de irritação em modelo de HET-CAM

O ensaio de irritação em modelo de HET-CAM teve início com a avaliação dos controles positivos: NaOH (Figura 19) e lauril sulfato de sódio.

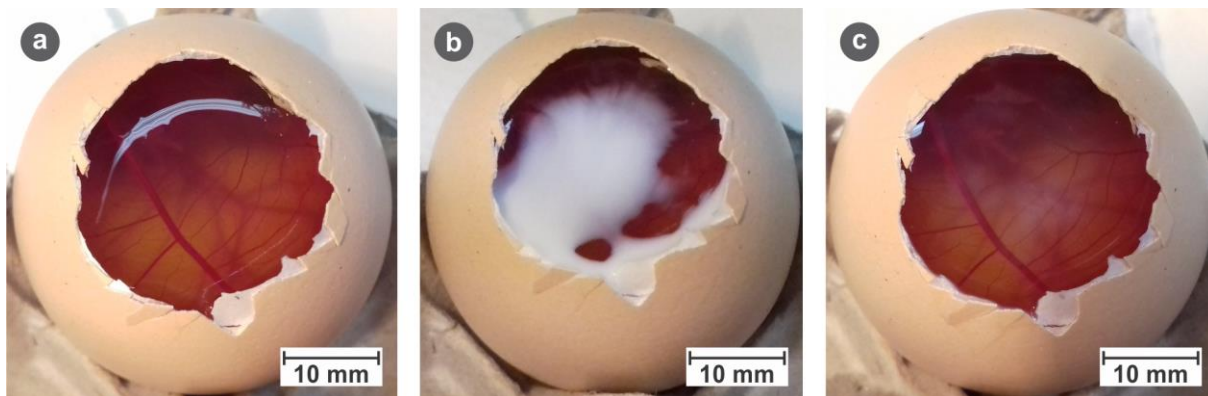
Figura 19 – Hemorragia e coagulação provocados pela aplicação de NaOH em membrana cório-alantóide.



Fonte: do autor.

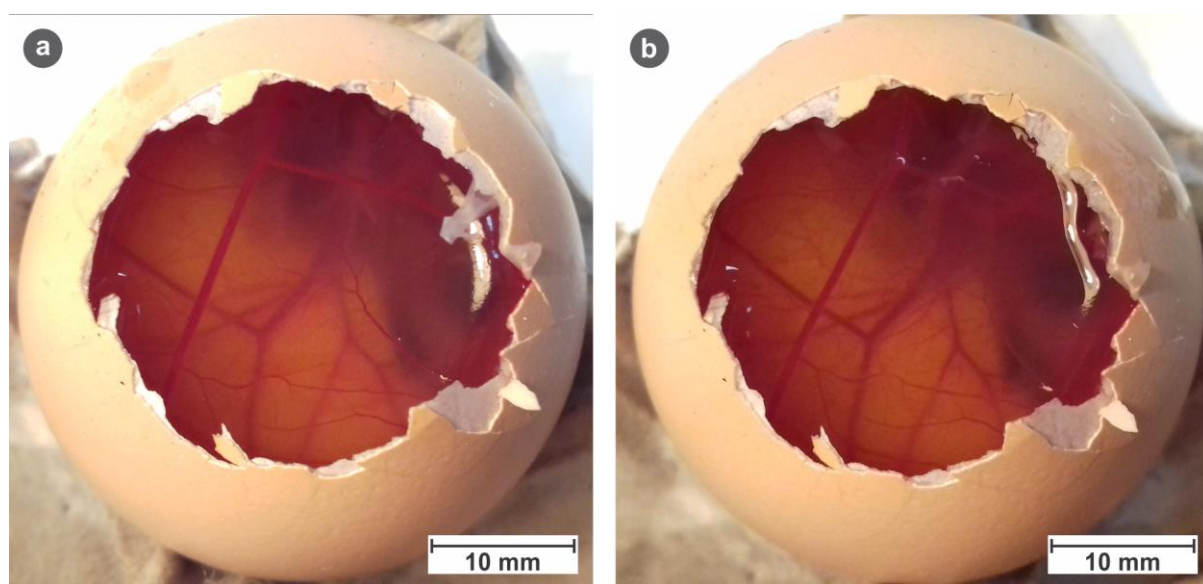
A avaliação de irritabilidade da dispersão de CLN Pheetocare não causou nenhum dos fenômenos observados com os controles positivos (Figura 20). Por sua vez, tanto o sabonete, quanto a respectiva solução controle, provocaram vasoconstrição e hemorragia (Figura 21).

Figura 20 – Avaliação da irritabilidade da dispersão aquosa CLN Pheetocare.



Após a abertura da casca do ovo (a), a dispersão aquosa de CLN Pheetocare foi aplicada diretamente sobre a membrana cório-alantóide (b). Depois de 20 segundos, a formulação foi lavada com solução salina e não foram observados fenômenos vasculares (c). Fonte: do autor.

Figura 21 – Avaliação da irritabilidade da formulação do sabonete.



Após a abertura da casca do ovo (a), o sabonete e a solução controle foram aplicados diretamente sobre a membrana cório-alantóide. Na imagem (b), é possível observar a ocorrência de vasoconstrição. Fonte: do autor.

A Tabela 13 apresenta a pontuação e a classificação de cada produto testado. O resultado foi expresso como a média dos valores obtidos em 5 ovos analisados por produto.

Tabela 13 – Pontuação e classificação de irritabilidade (HET-CAM).

Produto testado	Pontuação	Classificação
NaOH	13,47±0,20	Extremamente irritante
LSS	6,18±0,04	Moderadamente irritante
NaCl	0,07±0,00	Não irritante
CLN Pheetocare	0,07±0,00	Não irritante
Sabonete	9,00±0,35	Extremamente irritante
Sabonete (controle)	9,48±0,37	Extremamente irritante

A pontuação refere-se à média a média dos valores obtidos em 5 ovos analisados por produto. Siglas: NaOH, hidróxido de sódio; LSS, lauril éter sulfato de sódio, NaCl, cloreto de sódio.

De acordo com a pontuação obtida, a dispersão aquosa de CLN Pheetocare foi classificada como não irritante. Por se tratar de uma plataforma para aplicação em diferentes sistemas (como absorventes e lenços umedecidos) é fundamental esta formulação não seja irritante. Diferentemente, os resultados obtidos com o sabonete e seu respectivo controle foram considerados extremamente irritantes.

O ensaio de irritação em modelo HET-CAM é um método *in vitro* que foi desenvolvido para substituir o teste de Draize²⁰. Sendo assim, este é um procedimento que busca avaliar o potencial de irritação de componentes e formulações, principalmente, quando aplicados sobre o globo ocular. Entretanto, o HET-CAM também pode ser empregado para testes de irritação em pele e mucosa.

Além disso, os tensoativos aniônicos utilizados para limpar superfícies, como pele e cabelo, são conhecidamente irritantes. Nesta pesquisa, foi selecionado um tensoativo que é amplamente empregado em formulações para peles sensíveis e de bebês. Ainda que presente, o potencial de irritação do lauril éter sulfosuccinato de sódio é inferior a outros tensoativos (NOVAERA, 2016).

Não obstante, é sabido que a hidroxietilcelulose, utilizada como espessante, pode causar irritação moderada quando em contato com os olhos (DENVER-COTIA, 2002). Portanto, o que causa essa irritação constatada no teste com o sabonete são o tensoativo e o espessante e não a dispersão aquosa de CLN Pheetocare que está sendo proposta.

²⁰ O teste de Draize é um método *in vivo* que avalia o potencial de irritação de substâncias e formulações aplicando-as diretamente sobre o globo ocular de coelhos conscientes.

4.6 CARACTERIZAÇÃO DO TECIDO NÃO TECIDO²¹

Para a realização dos ensaios de caracterização dos protetores diários disponíveis no mercado, foi necessário separar a tela polimérica dos produtos. Dos sete protetores analisados, a maioria (amostras 2, 3, 5 e 6) apresenta apenas alguns pontos de adesão entre a cobertura e o núcleo absorvente, o qual era mais espesso e pouco compactado. Essas características dificultaram o processo de separação e as amostras de tela polimérica ficaram contaminadas com o material absorvente (celulose). Apenas as amostras 1 e 4 possuem o núcleo mais compacto e homogêneo.

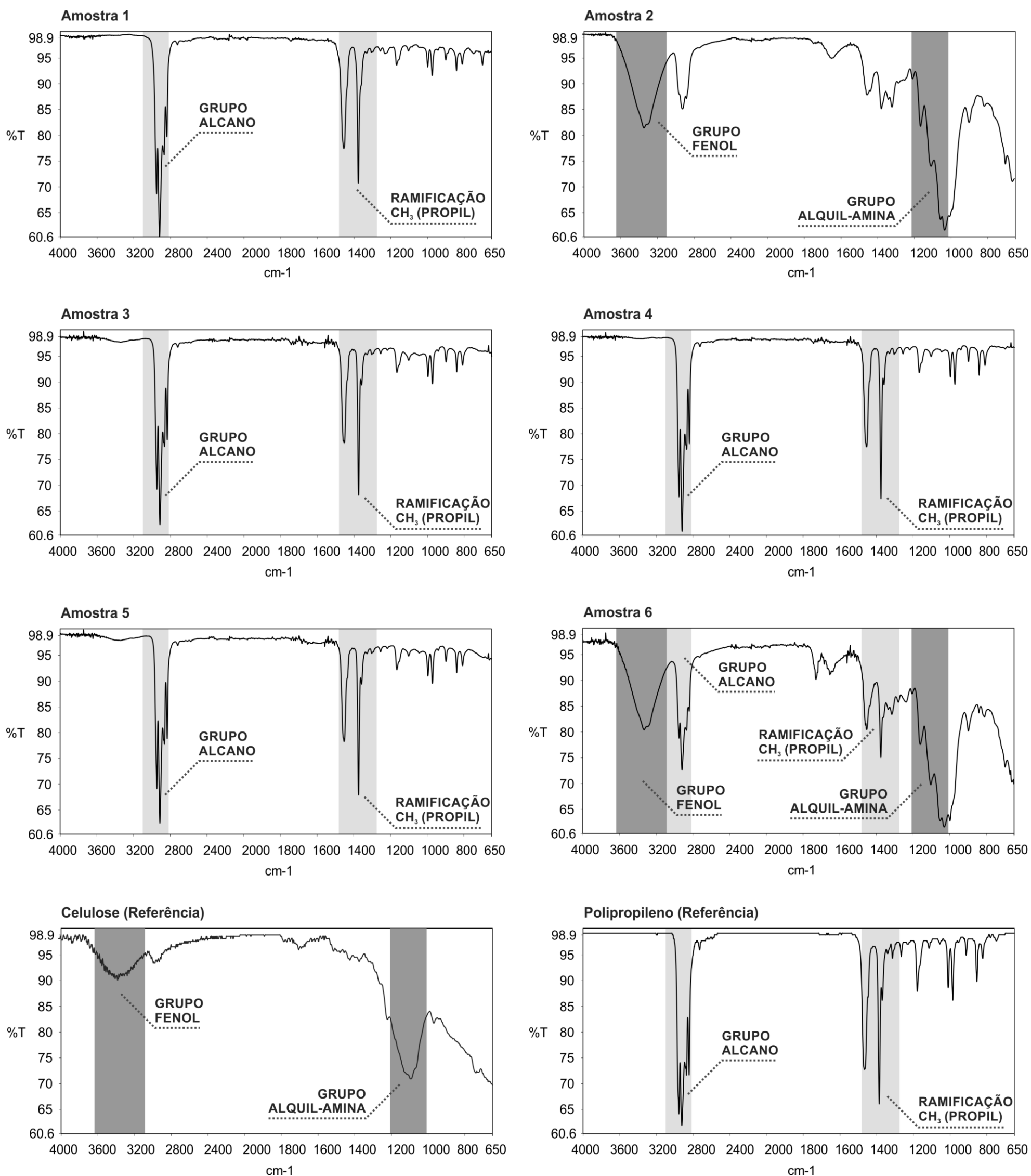
Com as amostras de tela polimérica separadas da estrutura dos protetores diários, foi realizada a análise dos grupamentos químicos presentes por FTIR/ATR (Figura 22). De acordo com os espectros gerados, as amostras 1, 3, 4, 5 e 6 são compostas de polipropileno cuja fórmula química é $(C_3H_6)_n$. Os espectros obtidos com as análises das amostras 2 e 6 indicam a presença de celulose (provavelmente, resíduo do núcleo absorvente) cuja fórmula química é $(C_6H_{10}O_5)_n$.

As análises por MEV possibilitaram identificar aspectos relacionados com a morfologia das telas poliméricas. As fotomicrografias (Figura 23), com ampliações de 50 e 250 vezes, revelam placas de material agregado, aparentemente fundido. Essa característica indica que os tecidos foram fabricados pelo processo de fiação contínua (*spunbond*) e consolidação térmica por pontos (*pointbonding*), conforme descrito por Gupta; Smith (2002).

Observa-se, também, que as amostras apresentam contaminação por pequenas partículas, entretanto, apenas pela morfologia, não é possível afirmar que se trata de poeira ou da celulose proveniente do núcleo absorvente. Além disso, com exceção da amostra 1, todas as outras possuem fibras de algodão entrelaçadas em sua estrutura. As fibras de algodão têm um formato achatado e irregular (Figura 24), sendo fácil perceber sua presença em meio às fibras regulares do poliéster.

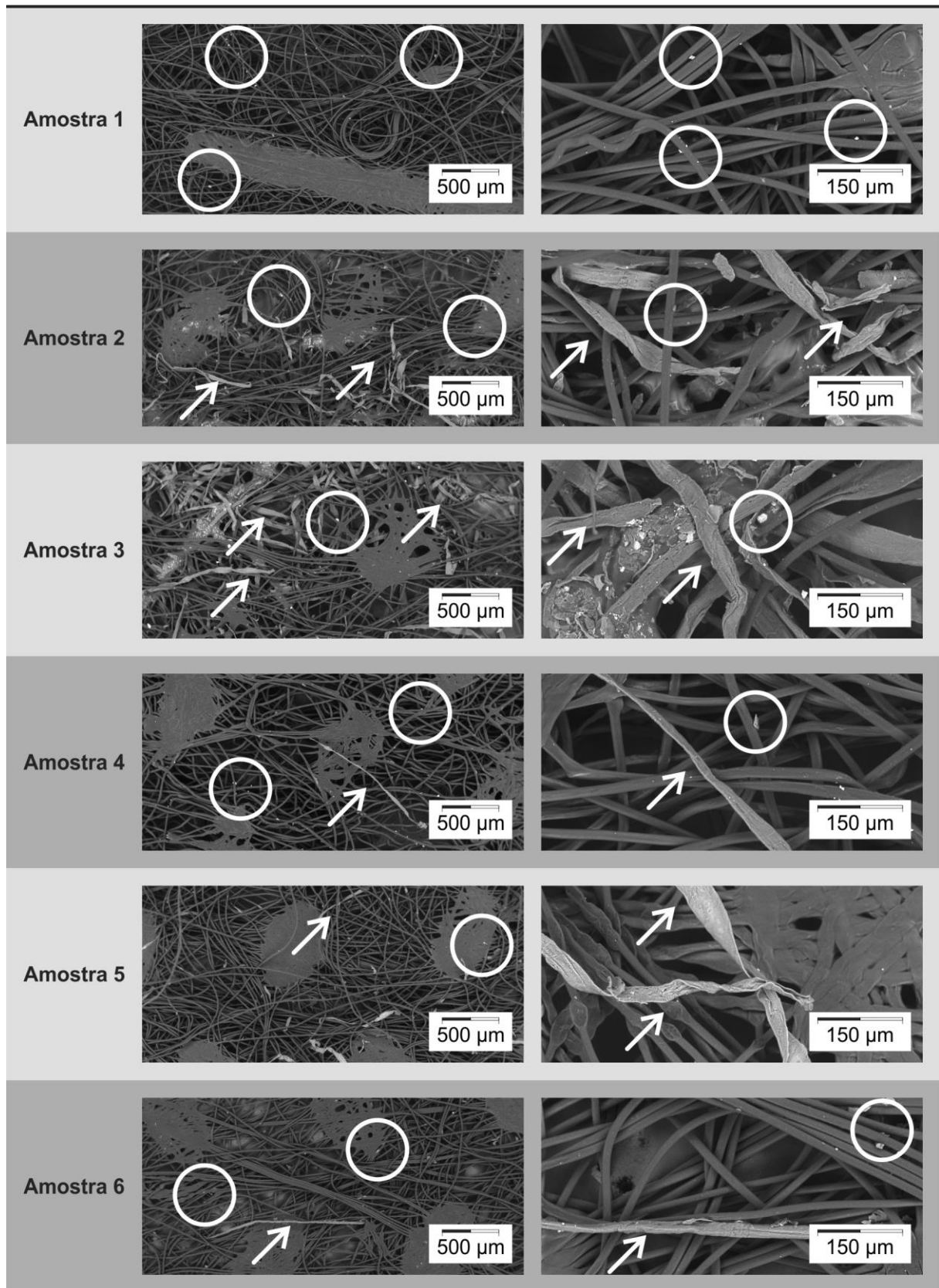
²¹ As informações contidas neste item estão publicadas em Pohlmann (2016) e em Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

Figura 22 – Espectros gerados pela análise por FTIR/ATR das telas polimérica de protetores diários disponíveis no mercado.



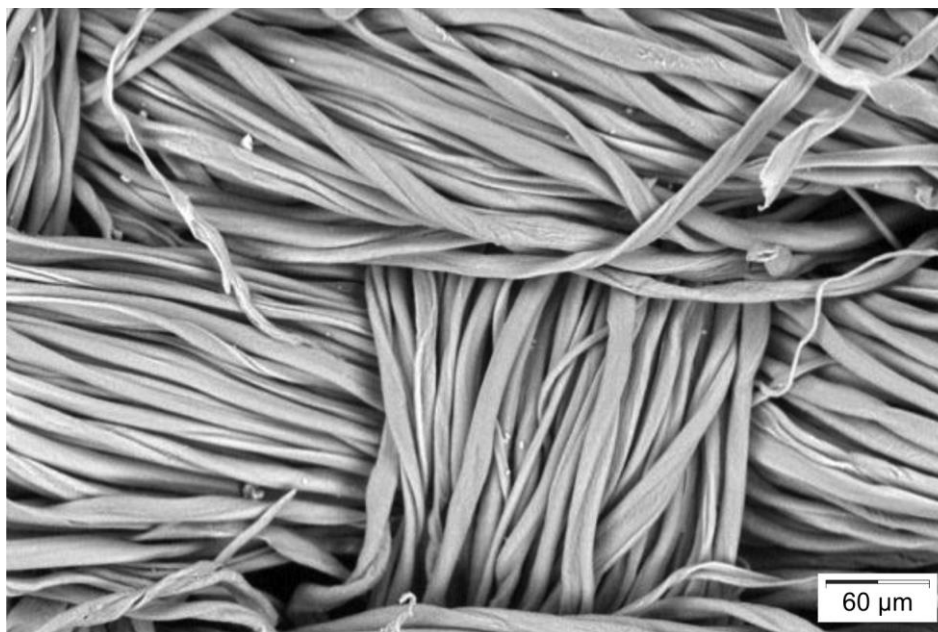
Os espectros indicam que o material utilizado como tela polimérica nesses produtos é constituída de polipropileno (PP). Nas amostras 2 e 6, são observados picos que correspondem à celulose (material do núcleo absorvente). A interpretação foi feita com base no esquema elaborado por Lopes; Fascio (2004) e é corroborada pelo espectro de celulose e de PP utilizados como referência. Traduzido de Pohlmann (2016).

Figura 23 – Fotomicrografias de telas polimérica dos protetores diários disponíveis no mercado.



As setas indicam as fibras de algodão entrelaçadas ao polipropileno e os círculos, partículas contaminantes. Traduzido de Pohlmann (2016).

Figura 24 – Fotomicrografia de fibras de algodão.



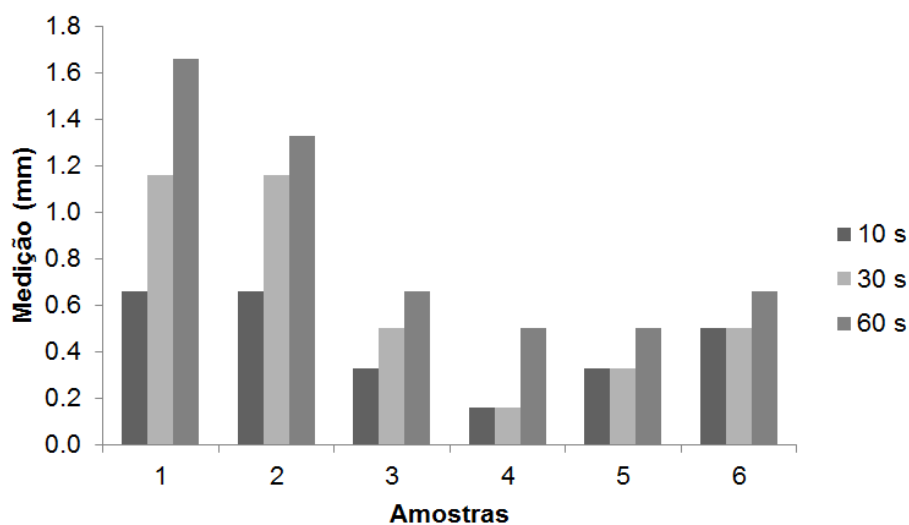
Diferentemente das fibras sintéticas, as fibras de algodão possuem um formato achatado e irregular. Adaptado de Rossi (2012).

De acordo com Alcântara e Daltin (1996), o algodão é constituído basicamente de celulose, a qual possui um número muito grande de hidroxilas, o que propicia uma grande capacidade de absorver água e um carácter hidrofílico. Portanto, acredita-se que a incorporação deste material tem o intuito de melhorar tanto no aspecto tátil, quanto na absorção dos fluidos corporais.

Para a medição da taxa de capilaridade, as amostras de TNT foram parcialmente imersas em água destilada e, durante os tempos de 10, 30 e 60 segundos, registrou-se a altura do líquido na seção emersa do tecido. Foram ensaiados 3 corpos de prova para cada amostra. Os gráficos apresentados na Figura 25 apresentam a média dos resultados obtidos.

De maneira geral, as amostras 1 e 2 apresentaram melhores resultados quanto à taxa de capilaridade, chegando a absorver até 1,66 mm em 60 s. A altura máxima atingida nas demais amostras foi de 0,66 mm. Acredita-se que esse resultado se deve ao fato da amostra 2 apresentar em sua composição elementos que possam interferir na absorção de água. Entretanto, não foi possível estabelecer uma relação entre a composição da amostra 1 e a quantidade de água absorvida. Além disso, observa-se que não há um padrão para a absorção por capilaridade dos materiais avaliados.

Figura 25 – Medição (em mm) da taxa de capilaridade da tela polimérica de protetores diários disponíveis no mercado.

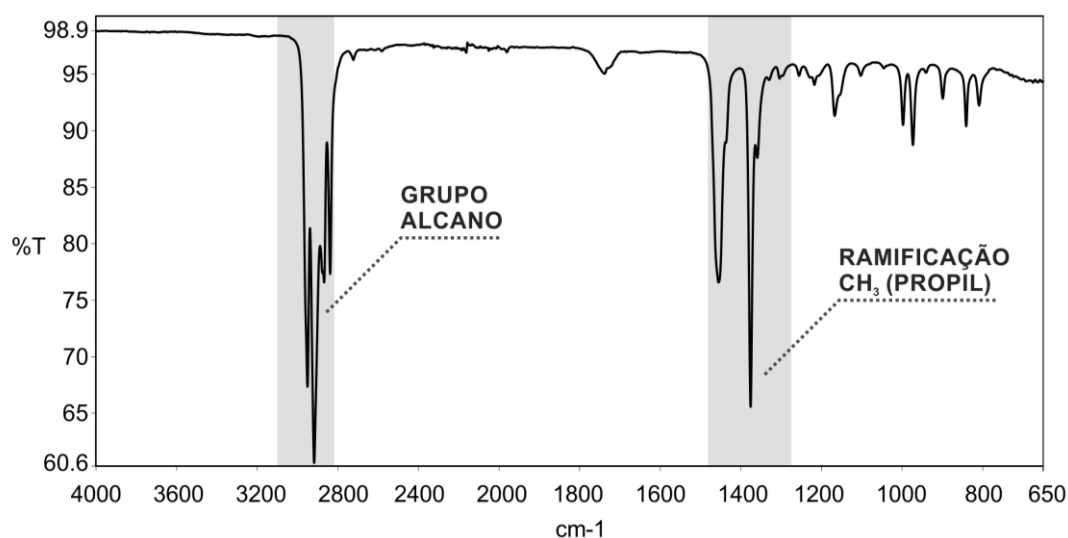


A medição foi realizada nos tempos 10, 30 e 60 segundos. Cada barra corresponde à média de 3 amostras. Traduzido de Pohlmann (2016).

Depois de realizadas as análises nas coberturas dos protetores diários disponíveis no mercado, a caracterização foi feita no TNT que serviu como substrato para aplicação das formulações desenvolvidas na presente pesquisa.

O espectro gerado por FTIR/ATR (Figura 26) é muito semelhante aos espectros gerados para as coberturas das amostras 1, 3, 4, 5 e 6 (Figura 22), indicando que o TNT é composto de polipropileno.

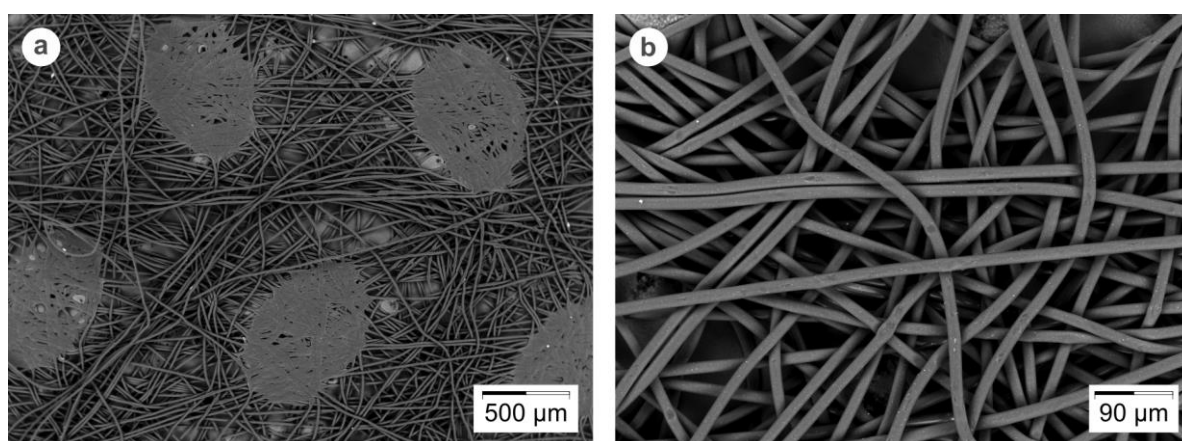
Figura 26 – Espectro gerado pela análise por FTIR do tecido não-tecido.



Interpretação feita com base no esquema elaborado por Lopes; Fascio (2004). Traduzido de Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

A partir das fotomicrografias com ampliações de 50 (Figura 27a) e 250 vezes (Figura 27b), pode-se constatar que, assim como as imagens das telas poliméricas dos produtos disponíveis no mercado (Figura 23), o material analisado também é fabricado pelos processos de fiação contínua (*spunbond*) e de consolidação térmica por pontos (*pointbonding*) descritos por Gupta; Smith (2002). Não foram observadas partículas contaminantes ou fibras de algodão. Sendo assim, as características físico-químicas do TNT utilizado no desenvolvimento desta pesquisa assemelham-se às da amostra 1.

Figura 27 – Fotomicrografias do TNT utilizado no desenvolvimento deste trabalho.

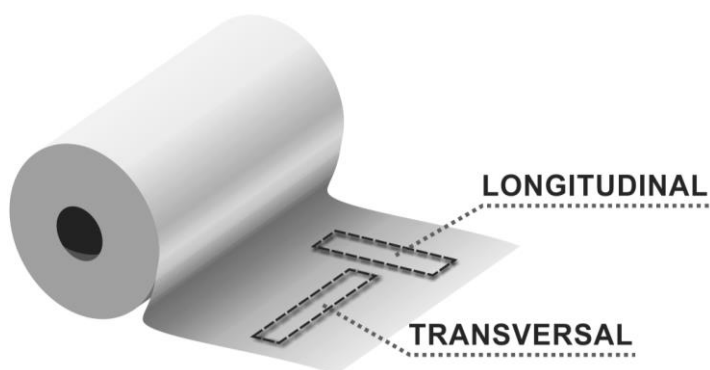


As imagens foram obtidas com ampliação de 50 (a) e 250 (b) vezes. Observam-se placas de consolidação do material caracterizando o processo de fabricação. Além disso, não há fibras de algodão ou partículas de celulose entrelaçadas à estrutura do material. Traduzido de Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

Para fins comparativos, a taxa de capilaridade do tecido não-tecido foi realizada em seis amostras, sendo três no sentido longitudinal e três no sentido transversal (Figura 28). Independentemente do sentido ensaiado, a água não foi absorvida pelo tecido não-tecido. Esse fato pode estar relacionado com a ausência de fibras de algodão ou de partículas de celulose na estrutura do material. Ou, ainda, a algum processo de acabamento que o tecido pode ter recebido durante sua fabricação.

Feitas as análises de caracterização físico-química dos materiais, a etapa seguinte foi a impregnação da dispersão aquosa de carreadores lipídicos nanoestruturados no tecido não-tecido.

Figura 28 – Sentidos (longitudinal e transversal) das amostras para a medição da taxa de capilaridade.



Fonte: do autor.

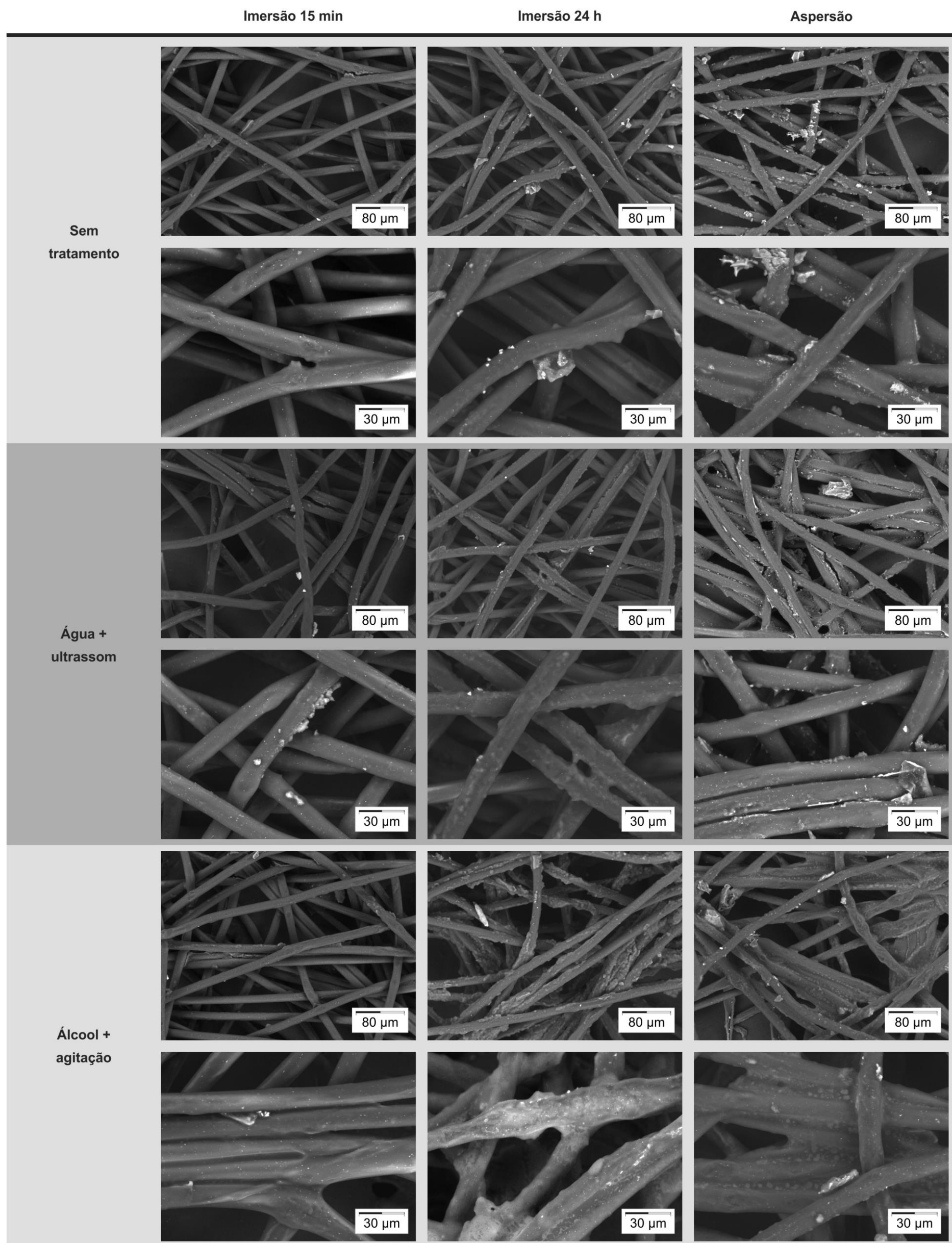
4.7 IMPREGNAÇÃO DA DISPERSÃO DE CLN ALFA-B NO TNT

Após a preparação da dispersão de CLN Alfa-b, a formulação foi impregnada no tecido não tecido. Como não há descrito na literatura um método específico para a impregnação deste tipo de suspensão em TNT, foram realizados diferentes ensaios a fim de verificar se há diferença na adesão.

As amostras foram separadas em três grupos: o primeiro grupo não recebeu tratamento; o segundo grupo permaneceu durante 12 horas imerso em água e ultrassom; e o terceiro grupo permaneceu durante 12 horas imerso em álcool sob agitação magnética. Depois deste procedimento, as amostras foram secas por 24 horas a temperatura ambiente. A seguir, foram submetidas a três processos de impregnação dos CLN Alfa-b: imersão durante 15 min; imersão durante 24 horas; e aspersão. Para fins de comparação, amostras passaram pelos mesmos tratamentos prévios e foram impregnadas com uma suspensão controle a qual possui os mesmo componentes dos CLN Alfa-b, mas que não foi submetido à homogeneização. A comparação entre a dispersão CLN e a suspensão controle tem como intuito verificar se a nanotecnologia oferece vantagens para impregnação no TNT.

As fotomicrografias, obtidas com 50 e 400 vezes de aumento, indicaram a presença da dispersão nas fibras do TNT (Figura 29).

Figura 29 – Fotomicrografias das amostras de TNT (com aumentos de 50 e 400 vezes) depois passarem por diferentes métodos de impregnação das dispersões de CLN Alfa-b.



Traduzido de Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

Observa-se que a formulação apresentou-se em forma de filme e aglomerados sobre as fibras. A desestruturação dos nanocarreadores, formando esse filme, pode ser atribuída à técnica de MEV. Esse equipamento utiliza um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, por linhas sucessivas e transmite o sinal do detector a uma tela catódica cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007). Quando o feixe de elétrons incidiu sobre os nanocarreadores – que são constituídos de manteiga de cupuaçu e fundem quando expostos a uma temperatura superior a 33 °C – pode ter ocorrido a desestruturação desses nanocarreadores formando o filme sobre as fibras.

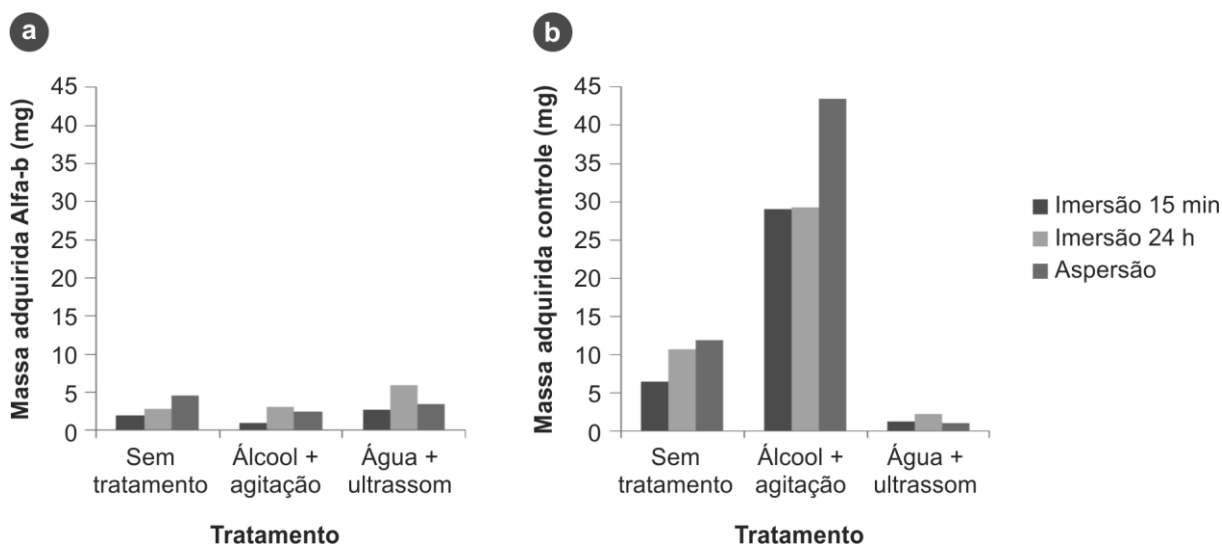
Além disso, há uma quantidade menor de formulação nas amostras que foram impregnadas por imersão de 15 min, quando comparadas aos outros métodos de impregnação. Por sua vez, as amostras impregnadas por aspersão apresentaram maior quantidade de carreadores lipídicos nanoestruturados aderidos nas fibras, mesmo nas amostras que não foram tratadas previamente.

As amostras tiveram sua massa medida em balança digital com precisão de 0,0001 g antes e após a impregnação. Esse procedimento permitiu verificar a massa adquirida de cada amostra frente aos diferentes métodos de tratamento e impregnação. Na Figura 30, são observados os gráficos que representam a massa das amostras de tecido não-tecido após a impregnação com a dispersão aquosa de CLN Alfa-b (a) e com a suspensão controle (b).

De maneira geral, pode-se observar que, independentemente do tratamento prévio, as amostras impregnadas com CLN Alfa-b apresentaram um resultado mais homogêneo (Figura 30a). Diferentemente do que é observado no gráfico das amostras impregnadas com a suspensão controle (Figura 30b), no qual é perceptível um melhor resultado nas amostras tratadas com álcool e agitação magnética.

Entretanto, não é possível afirmar que a massa adquirida das amostras impregnadas com solução controle foi superior à massa das amostras impregnadas com CLN Alfa-b. Ainda que as amostras que não passaram por tratamento e aquelas que foram agitadas em álcool apresentam os maiores valores (Figura 30b), as amostras que foram submetidas a ultrassom em água (Figura 30b) adquiriram menos massa quando comparadas às amostras impregnadas com CLN Alfa-b (Figura 30a).

Figura 30 – Massa adquirida das amostras de tecido não-tecido após impregnação com CLN Alfa-b *versus* massa adquirida das amostras impregnadas com suspensão controle.



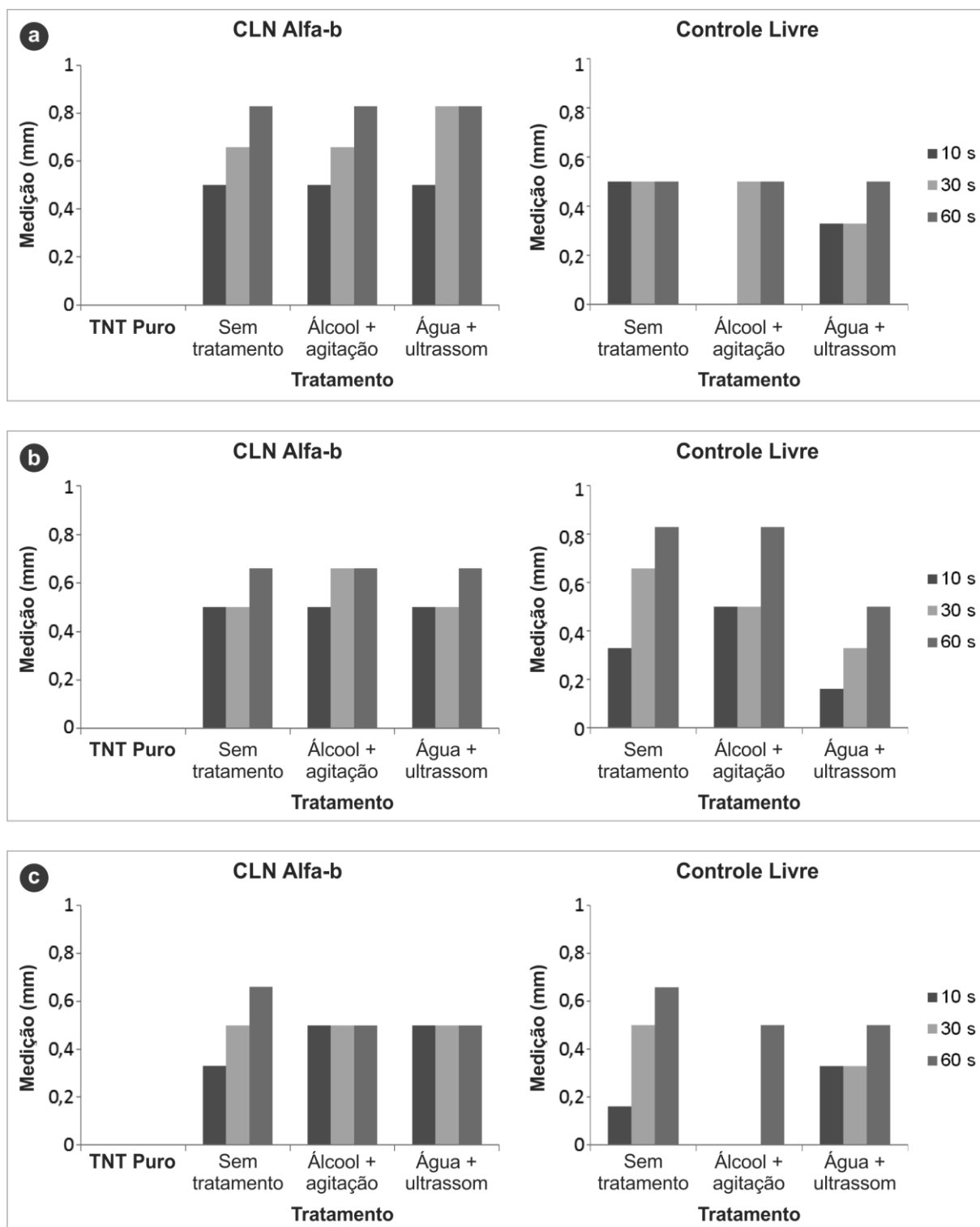
Os gráficos indicam a massa adquirida após impregnação com a dispersão aquosa de CLN Alfa-b (a) e com a suspensão controle (b). Ambas as formulações possuem como ingredientes ativos manteiga de cupuaçu, óleo de melaleuca, alfa-bisabolol e ácido cítrico. Cada barra corresponde à média da massa de três amostras. Traduzido de Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

Quanto ao tratamento prévio, os resultados da medição de massa não permitem determinar o método mais adequado. Ao comparar as amostras que foram tratadas com álcool, por exemplo, os resultados da impregnação com CLN Alfa-b e com a solução controle foram antagônicos.

No que tange o método de impregnação, nas amostras impregnadas com CLN Alfa-b, o melhor resultado foi obtido com a imersão de 24 horas, seguido da aspersão. Quanto às amostras impregnadas com a solução controle, o melhor resultado foi a aspersão, seguido da imersão de 24 horas.

Conforme descrito no item 4.6 (Caracterização do tecido não-tecido), os ensaios para medição da taxa de capilaridade das amostras de TNT puro não registraram a absorção de água. Já nas amostras após a impregnação, tanto com os CLN Alfa-b quanto com a suspensão controle, constata-se a capacidade de absorção de água pelo tecido (Figura 31). Além da presença de grupamento apolar (lipofílico) na estrutura da manteiga de cupuaçu, há também um grupamento polar (hidrofílico). Portanto, acredita-se que a absorção de água após a impregnação tenha sido em decorrência desta característica anfifílica da manteiga de cupuaçu.

Figura 31 – Medição (em mm) da taxa de capilaridade das amostras de tecido não-tecido após serem impregnados com a dispersão aquosa de CLN Alfa-B *versus* a capilaridade das amostras impregnadas com a suspensão controle.



O gráfico (a) corresponde à impregnação feita por imersão de 15 min; o gráfico (b), à impregnação por imersão de 24 h; e o gráfico (c), à impregnação por aspersão. Nos eixos horizontais, o espaço do TNT Puro refere-se à taxa de capilaridade do tecido antes da impregnação (0 mm). As medições foram feitas nos tempos 10, 30 e 60 segundos. Cada barra corresponde à média da massa de três amostras. Traduzido de Pohlmann, Paese, Guterres (2016).

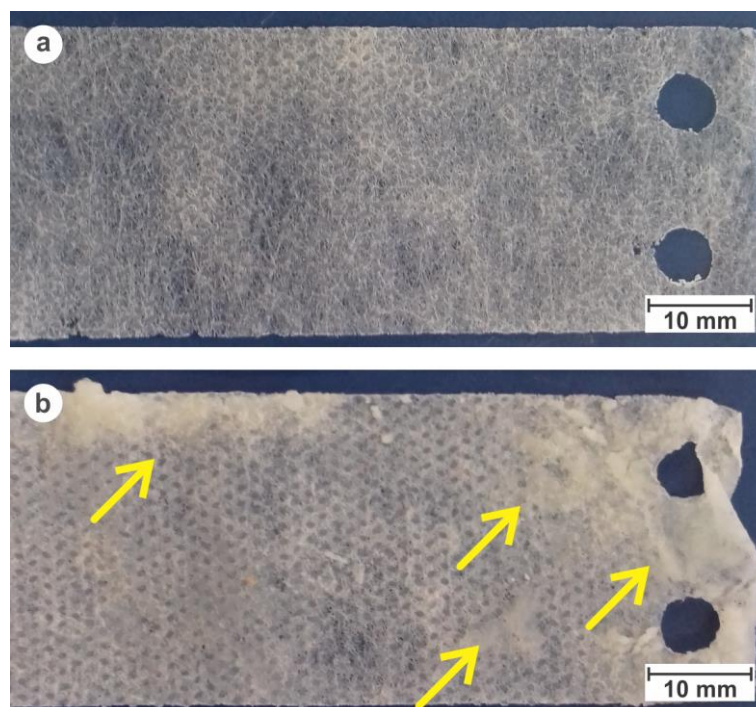
De maneira geral, observa-se que as amostras impregnadas com os CLN Alfa-b apresentam resultados melhores em relação às amostras impregnadas com a suspensão controle. Considerando apenas as amostras impregnadas por CLN Alfa-b, os melhores resultados foram obtidos com a utilização da imersão de 15 min, enquanto que os piores resultados foram os obtidos com a aspersão. Ainda assim, essa diferença (0,19 mm) pode ser considerada irrisória, mesmo em termos relativos, podendo, inclusive, ser decorrente de eventuais erros de medição.

Ainda sobre as amostras impregnadas com CLN Alfa-b, a avaliação visual feita através das fotomicrografias revelar uma quantidade maior de material impregnado nas amostras tratadas com água e ultrassom. Este fato é corroborado pela verificação da diferença de massa antes e após a impregnação, no qual se observa uma maior quantidade de CLN Alfa-b nas amostras que foram tratadas com água e ultrassom e impregnadas por imersão (15 min e 24 horas). Mesmo assim, não houve uma melhora significativa na absorção de água entre as amostras que não receberam tratamento e aquelas que foram tratadas antes da impregnação.

Quanto às amostras impregnadas com a suspensão controle, não há relação entre o maior valor de massa adquirida (em todos os processos de impregnação cujas amostras foram tratadas com álcool e agitação magnética) e a maior quantidade de água absorvida (amostras sem tratamento e/ou submetidas a ultrassom em água impregnadas por imersão de 24 horas). Além disso, após o período de 24 horas para a secagem das amostras impregnadas, verificou-se que a suspensão controle não estava distribuída homoganeamente sobre as amostras e as partes com maior concentração de suspensão permaneciam úmidas. Diferentemente do que ocorreu com as amostras impregnadas com CLN Alfa-b (Figura 32). Esse resultado confirma o benefício trazido pela utilização da nanotecnologia: a viabilização da incorporação de substâncias lipofílicas em meio aquoso.

Assim, foi considerado que o procedimento mais adequado para a impregnação do TNT com a dispersão aquosa de CLN Alfa-b é a aspersão sem qualquer tratamento prévio nas amostras.

Figura 32 – Amostras impregnadas com a dispersão aquosa CLN Alfa-b e com a suspensão controle.



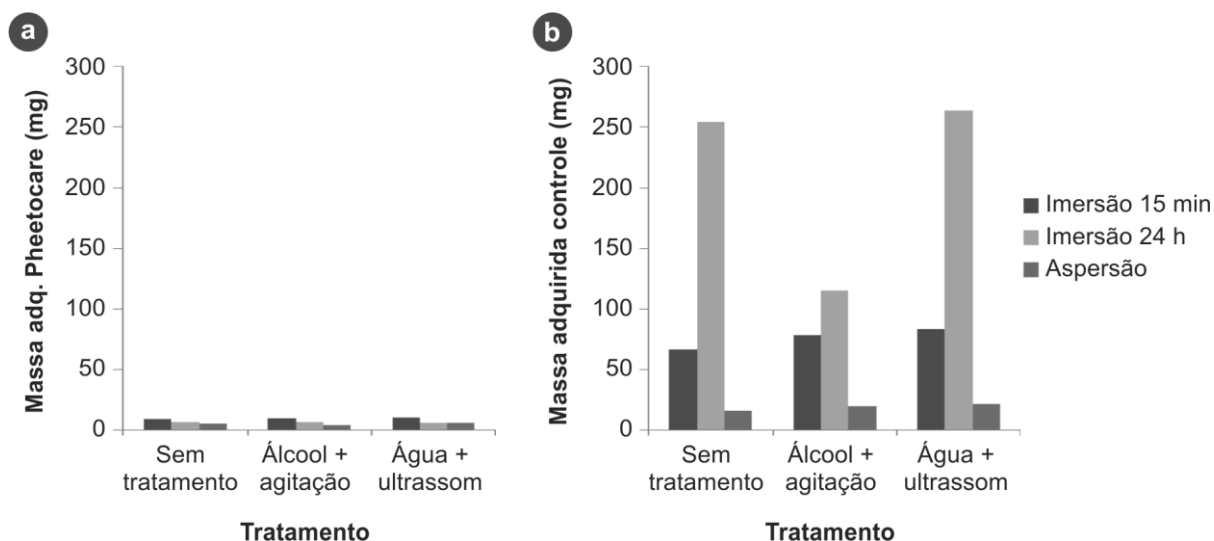
Após a impregnação, as amostras apresentaram a dispersão aquosa de CLN Alfa-b distribuída homogeneamente sobre toda a superfície (a). Diferentemente do ocorrido pela impregnação com a suspensão controle (b) que resultou em partes com maior concentração da formulação (indicado pelas setas). Fonte: do autor.

4.8 IMPREGNAÇÃO DA DISPERSÃO AQUOSA DE CLN PHEETOCARE NO TNT

A impregnação do TNT com a dispersão aquosa de CLN Pheetocare seguiu os mesmos procedimentos descritos no item 4.7. Nesta etapa, amostras também foram impregnadas com uma suspensão controle, a qual era constituída de manteiga de cupuaçu, alfa-bisabolol, óleo de melaleuca, resveratrol e óleo de semente de uva. Foram avaliadas a massa adquirida e a capilaridade das amostras impregnadas com ambas as formulações.

A massa adquirida foi obtida a partir da diferença entre a massa das amostras antes e após a impregnação. A medição foi realizada com a utilização de uma balança digital com precisão de 0,0001 g. Na Figura 33, são observados os gráficos que representam a massa das amostras de tecido não-tecido após a impregnação com a dispersão aquosa de CLN Pheetocare (a) e com a suspensão controle (b).

Figura 33 – Massa adquirida das amostras de tecido não tecido após impregnação com CLN Pheetocare *versus* massa adquirida das amostras impregnadas com suspensão controle.



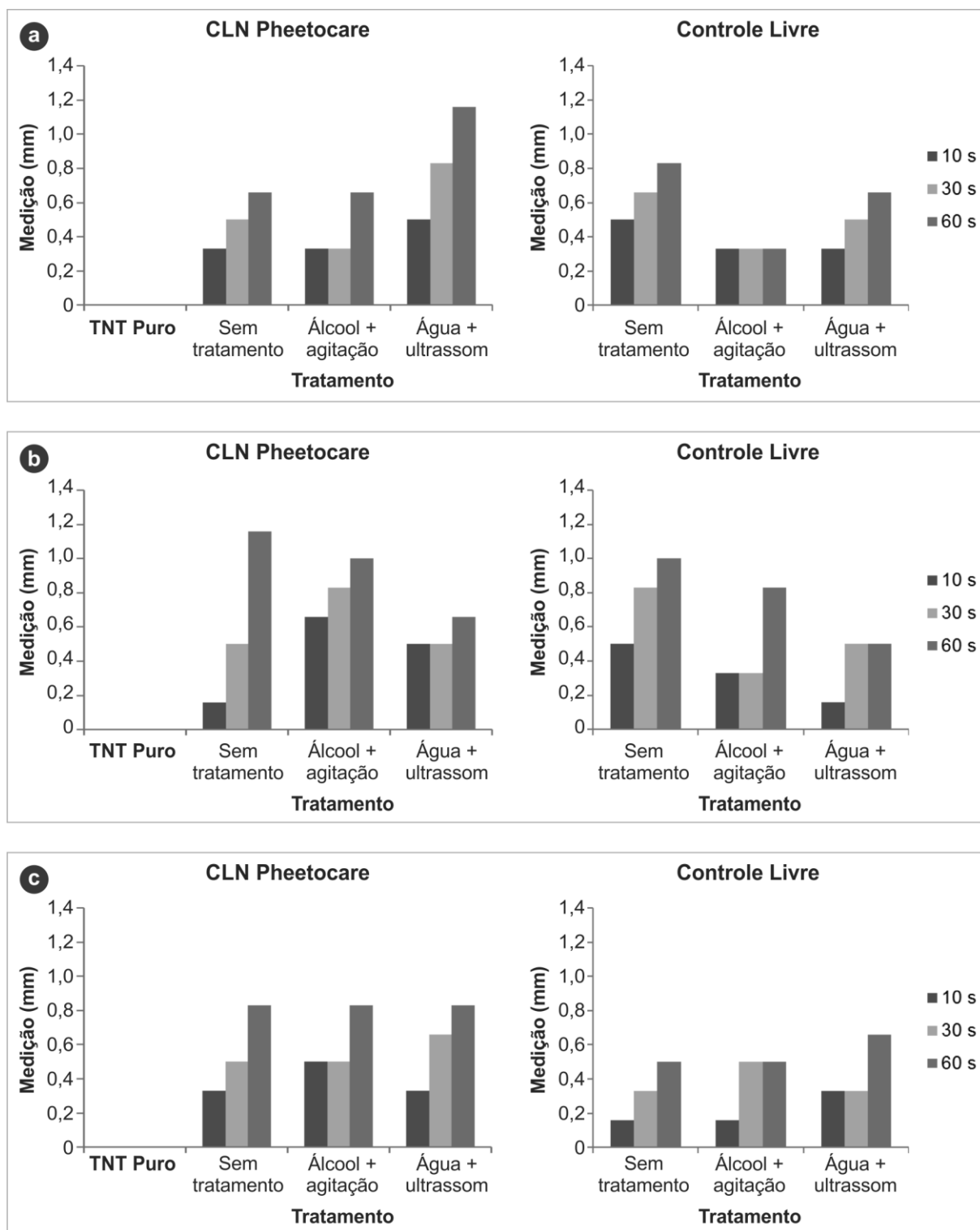
Os gráficos indicam a massa adquirida após impregnação com a dispersão aquosa de CLN Pheetocare (a) e com a suspensão controle (b). Ambas as formulações possuem como ingredientes ativos manteiga de cupuaçu, óleo de melaleuca, alfa-bisabolol, ácido cítrico, resveratrol e óleo de semente de uva. Cada barra corresponde à média da massa de três amostras. Fonte: do autor.

Observa-se que as amostras impregnadas com CLN Pheetocare apresentaram um resultado mais homogêneo (Figura 33a). Ao contrário do que acontece com as amostras impregnadas com a suspensão controle (Figura 33b), no qual o gráfico indica um resultado melhor nas amostras tratadas previamente com álcool e agitação magnética. Esse resultado é semelhante com o obtido com a dispersão de CLN Alfa-b e respectiva suspensão controle. Entretanto, diferentemente do resultado obtido anteriormente, a massa adquirida de todas as amostras impregnadas com a suspensão controle foi superior à massa das amostras impregnadas com CLN Pheetocare.

No que tange o tratamento prévio, para as amostras impregnadas com CLN Pheetocare, o ideal é não tratar as amostras. Enquanto que na impregnação com a suspensão aquosa, o indicado é o tratamento com álcool e agitação magnética.

Quanto ao método de impregnação, nas amostras impregnadas com CLN Pheetocare, a diferença entre as técnicas é tênue sendo irrisória a diferença entre elas. O mesmo acontece com as amostras impregnadas com a solução controle. Apesar de os gráficos apresentarem um resultado heterogêneo, pode-se desconsiderar a diferença relativa entre as técnicas.

Figura 34 – Medição (em mm) da taxa de capilaridade das amostras de tecido não-tecido após serem impregnados com a dispersão aquosa de CLN Pheetocare *versus* a capilaridade das amostras impregnadas com a suspensão controle.



O gráfico (a) corresponde à impregnação feita por imersão de 15 min; o gráfico (b), à impregnação por imersão de 24 h; e o gráfico (c), à impregnação por aspersão. Nos eixos horizontais, o espaço do TNT Puro refere-se à taxa de capilaridade do tecido antes da impregnação (0 mm). As medições foram feitas nos tempos 10, 30 e 60 segundos. Cada barra corresponde à média da massa de três amostras. Fonte: do autor.

A Figura 34 apresenta o resultado das medições da taxa de capilaridade das amostras impregnadas com CLN Pheetocare e com a suspensão controle. Ao comparar com o TNT puro, observa-se a capacidade de absorção de água garantida pela característica anfifílica da manteiga de cupuaçu.

Semelhantemente ao ocorrido com as amostras impregnadas com a dispersão CLN Alfa-b, as amostras impregnadas com CLN Pheetocare apresentaram uma taxa de capilaridade superior às amostras impregnadas com a suspensão controle. Ao avaliar apenas as amostras impregnadas com CLN Pheetocare, o melhor resultado foi obtido por imersão de 24 horas. Ainda assim, a diferença em relação aos outros métodos é irrisória (0,07 mm), sendo, portanto, desconsiderada.

As amostras impregnadas com a suspensão controle também apresentaram partes com maior acúmulo de material diferentemente das amostras impregnadas com CLN Pheetocare.

Assim, foi considerado que o procedimento mais adequado para a impregnação do TNT com a dispersão aquosa de CLN Pheetocare é a aspersão sem qualquer tratamento prévio nas amostras. De mais a mais, no que tange à viabilização do beneficiamento das coberturas para produção em larga escala, a incorporação de um processo de tratamento prévio aumenta o custo financeiro podendo, inclusive, se tornar inexecutável.

4.9 PRODUÇÃO DOS LENÇOS UMEDECIDOS

Os lenços umedecidos foram produzidos a partir do TNT impregnado com a mesma formulação utilizada para a produção do sabonete: dispersão aquosa de CLN Pheetocare incorporada com 5 % (p/p) de lauril éter sulfossuccinato de sódio e 0,5 % (p/p) de hidroxietilcelulose. O procedimento de impregnação considerado mais adequado é a aspersão, conforme descrito no item *4.8 Impregnação da dispersão aquosa de CLN Pheetocare no TNT*. Apesar de a formulação conter lauril éter sulfossuccinato de sódio, a presença de lipídio (proveniente da manteiga de

cupuaçu) e de óleos (óleo de melaleuca e óleo de semente de uva) impede a formação de grande quantidade de espuma, possibilitando a utilização deste método de impregnação com a formulação do sabonete.

Para o presente trabalho, indica-se que os lenços umedecidos sejam acondicionados em embalagens de alumínio seladas individualmente. Essas embalagens têm como vantagem a proteção contra oxidação, ação dos raios UV, contaminação microbológica, bem como evita a entrada ou, como no caso do produto proposto neste trabalho, saída de umidade (ABAL, 2016). Portanto, torna-se dispensável a incorporação de um agente umectante, pois essa embalagem permite a manutenção das propriedades da formulação impregnada por mais tempo.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A microbiota vulvovaginal tem suma importância na manutenção da saúde íntima feminina. Diversos fatores interferem no equilíbrio deste sistema, incluindo a variação hormonal, pH, deficiência imunológica e as práticas de higiene da região. Artigos de higiene específicos para o uso ginecológico – tais como protetores diários, sabonete e lenços umedecidos – estão disponíveis no mercado, entretanto estudos demonstram a presença de substâncias cujos efeitos no organismo ainda são questionados e estudados.

A utilização de substâncias de origem vegetal aliada à nanotecnologia fornece subsídios para o desenvolvimento de uma linha de produtos com alto potencial inovador e benéfica à saúde e ao bem-estar da mulher. A revisão de patentes e de metodologias para a obtenção de carreadores lipídicos nanoestruturados e de impregnação de substâncias em tecidos forneceram dados imprescindíveis para a realização desta pesquisa. Assim, foram executados ensaios para a determinação de uma metodologia que contemple os requisitos necessários para o desenvolvimento deste trabalho.

No teste piloto para a determinação dos constituintes da formulação, os carreadores lipídicos nanoestruturados preparados com manteiga de cacau e manteiga de cupuaçu apresentaram diâmetro médio estável durante os testes de estabilidade. Sendo assim, as formulações foram preparadas com a manteiga de cupuaçu. Este componente, não somente estrutura os carreadores, mas também atua como um poderoso hidratante já que é composto por ácidos graxos saturados e insaturados.

Ainda, constatou-se que a adição de ácido cítrico não compromete a estabilidade das suspensões. Portanto essa substância foi incorporada à formulação para atuar como regulador de pH. Foi acrescentado, também, o alfa-bisabolol, pois suas propriedades (cicatrizante, bactericida, fungicida, anti-inflamatório, etc.) enriquecem as características dos produtos de higiene íntima feminina em desenvolvimento.

A segunda formulação, contendo alfa-bisabolol, foi denominada Alfa-b. Essa dispersão foi submetida a análises físico-químicas e de estabilidade. Durante o

período de avaliação, o diâmetro das partículas e o índice de polidispersão obtidos indicaram homogeneidade na distribuição de tamanho de partículas das amostras. O valor do pH não sofreu uma variação significativa, se mantendo em torno de 2,4. A quantidade desta substância utilizada no presente trabalho foi determinada com base na formulação proposta por Medicis Pharm Corp et al. (2014). Entretanto, devido à interação com as demais substâncias ativas, o pH ficou abaixo dos valores indicados na literatura (entre 3,5 e 4,5).

Com os dados obtidos por difratometria de laser, pôde-se observar que não houve uma variação significativa da distribuição do tamanho de partícula ao longo do período de análise, sendo um indício de boa estabilidade do sistema. Entretanto, quando analisadas por espalhamento de luz, verificou-se que o valor absoluto do potencial zeta manteve-se baixo. Sendo assim, a formulação Alfa-b é considerada fisicamente estável até 15 dias após sua preparação.

A terceira e última bateria de ensaios caracterizou a dispersão aquosa que foi denominada *CLN Pheetocare*. Essa formulação foi produzida com óleo essencial de melaleuca, alfa-bisabolol e ácido cítrico (q.s.p. pH 4,0). Foram incorporados o óleo de semente de uva (devido a sua capacidade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e de proteção da pele) e o resveratrol que, além da ação antioxidante, também possibilitou a determinação do teor por CLAE.

Os dados obtidos por difratometria de laser indicaram boa estabilidade do sistema ao longo do período analisado. O valor do pH se manteve em torno de 4,37, o qual é satisfatório para aplicação em produtos para higiene íntima feminina. Os resultados da análise feita por espalhamento de luz dinâmico indicaram homogeneidade na distribuição de tamanho de partículas das amostras. A quantificação de resveratrol por CLAE indicou a presença do componente ativo durante as análises.

Depois de definida a composição da dispersão aquosa, a etapa seguinte foi a incorporação de um agente tensoativo e de um espessante a fim de se obter a formulação do sabonete. Como espessante, foram utilizados 0,5 % (p/p) de hidroxietilcelulose. A estabilidade do sabonete contendo diferentes concentrações de lauril éter sulfosuccinato de sódio, como tensoativo, foi avaliada por difratometria de laser. Ao final das análises, ficou estabelecido que a concentração de 5 % (p/p) deste tensoativo é a adequada para integrar a formulação do sabonete.

Além da caracterização físico-química da dispersão aquosa de CLN Pheetocare e da estabilidade do sabonete, foram realizados ensaios pré-clínicos a fim de verificar a interação da formulação com a mucosa vaginal, bem como seu potencial irritativo. Os testes foram executados com a formulação nanoparticulada e comparadas com formulações controle.

As análises *in vitro* de lavabilidade, permeação e penetração em mucosa vaginal de suíno indicaram que a dispersão aquosa de CLN Pheetocare permanece, em maior parte, aderida à camada mais externa da mucosa vaginal. Portanto, pode ser considerada segura para a aplicação em produtos de higiene íntima feminina. Nos ensaios de irritabilidade em modelo de HET-CAM, a dispersão aquosa de CLN Pheetocare foi classificada como não irritante. O mesmo não aconteceu com o sabonete, o qual foi considerado extremamente irritante. Constatou-se que os agentes irritantes são o tensoativo e o espessante incorporados à formulação.

Antes da impregnação da dispersão no TNT, foram realizados ensaios de caracterização para verificar a morfologia, a composição do material e a taxa de capilaridade. Este estudo partiu da análise de similares disponíveis no mercado.

A partir dos espectros gerados por FTIR/ATR, constatou-se que as amostras 1, 3, 4, 5 e 6 são compostas de polipropileno. Os espectros das amostras 2 e 6 indicam a presença de celulose (provavelmente, resíduo do núcleo absorvente). Com as fotomicrografias obtidas por MEV, verificou-se que as telas poliméricas são fabricadas pelo processo de fiação contínua (*spunbond*) e consolidação térmica por pontos (*pointbonding*). Além disso, observou-se a presença de partículas contaminantes e de fibras de algodão na maioria das amostras. A determinação da taxa de capilaridade não resultou em um padrão para a absorção de água.

Os mesmos ensaios foram executados no tecido não-tecido que foi utilizado para a produção dos artigos de higiene íntima. O espectro gerado pela análise por FTIR/ATR indica que o material é composto de polipropileno. As fotomicrografias obtidas por MEV revelam que o TNT é fabricado pelo processo de fiação contínua (*spunbond*) e consolidação térmica por pontos (*pointbonding*). Não foram observadas partículas contaminantes ou fibras de algodão. Assim, conclui-se que o tecido possui características semelhantes às telas poliméricas dos produtos disponíveis no mercado, sendo plausível sua utilização nas etapas de impregnação

deste trabalho. Na determinação da taxa de capilaridade no TNT puro, não foi verificada absorção de água pelo tecido.

As amostras de TNT foram submetidas a tratamentos prévios e a diferentes procedimentos de impregnação com CLN Alfa-b e CLN Pheetocare. Os resultados obtidos pela medição de massa adquirida, fotomicrografias por MEV e medição da taxa de capilaridade indicaram que para ambas as formulações o método mais indicado é a impregnação por aspersão sem a necessidade de tratar as amostras previamente.

Para a produção dos lenços umedecidos foi utilizada a formulação do sabonete (dispersão aquosa de CLN Pheetocare incorporada com lauril éter sufossuccinato de sódio e hidroxietilcelulose). A impregnação da formulação no TNT seguiu o procedimento considerado mais adequado conforme supracitado: aspersão sem necessidade de tratamento prévio do TNT.

Os resultados obtidos demonstram que os objetivos da presente pesquisa foram alcançados. Foi possível, não somente, desenvolver e caracterizar uma dispersão aquosa de CLN contendo substâncias de origem vegetal, mas também verificar a viabilidade da impregnação dessa formulação em TNT. Esse resultado possibilita o enriquecimento da cobertura de absorventes íntimos com uma formulação que visa à saúde e ao bem estar da mulher. Não obstante, juntamente com a produção do sabonete, a impregnação possibilitou o desenvolvimento dos lenços umedecidos. Esse trabalho teve, como foco central, a saúde íntima feminina. Entretanto, tendo em vista as propriedades dos componentes incorporados à formulação da dispersão aquosa de CLN Pheetocare, demais desdobramentos podem ser considerados conforme descrito a seguir.

5.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Verificar demais potencialidade de aplicação da formulação desenvolvida, tais como produtos para uso cutâneo em geral e palmilhas para calçados;
- Avaliar a impregnação da dispersão aquosa de CLN Pheetocare em outros substratos, como tecidos de algodão e espumas de poliuretano visando ampliar a abrangência de aplicação;
- Estudar outros métodos de impregnação considerando aspectos econômicos no que tange à produção em larga escala;
- Realizar estudos microbiológicos para avaliar a eficácia dos componentes ativos quanto às propriedades previamente descritas na literatura;
- Executar ensaios *in vivo* no intuito de se obter dados fidedignos quanto à interação da dispersão aquosa de CLN Pheetocare com a pele.

REFERÊNCIAS

- 3SM KOREA CO LTD. **Sanitary napkin comprises inner skin, composition, liquid adhesive, absorbent pad and waterproof outer shell.** KR1402682-B1, 03 junho 2014.
- ABAL. **Portal embalagens de alumínio.** Disponível em: <<http://embalagensdealuminio.com.br/flexiveis/>>. Acesso em: 17 set. 2016.
- ABDOU, HM. **Dissolution, Bioavailability & Bioequivalence.** Easton: Mack Publishing Company, 1989. 554p.
- ABIGO MEDICAL AB et al. **Device for the treatment of vaginal fungal infection.** WO2009061270 A1, 14 maio 2009.
- ABNT. **NBR-13370: Nãotecido – Terminologia.** Rio de Janeiro, 2002.
- ABNT. **NBR-13735: Nãotecido – Determinação da absorção.** Rio de Janeiro, 2006.
- ABOU-OKEIL et al. Wound dressing based on nonwoven viscose fabrics. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, 2012, pp. 658– 666.
- ABTA. **Glioblastoma (GBM).** Disponível em: <<http://www.abta.org/brain-tumor-information/types-of-tumors/glioblastoma.html>>. Acesso em 12 set. 2015.
- ACATURK, F.; ROBINSON, JR. Effect of the spermicide, nonoxynol 9, on vaginal permeability in normal and ovariectomized rabbits. **Pharm. Res.**, n. 13, 1996. p. 950–951.
- AHAMED, HM et al. Prevention of Diaper Dermatitis in Baby Diapers with Nanoencapsulated Natural Extracts. In: **Proceedings of the 4th International Conference on Nanostructures (ICNS4)**, 2012.
- ALCÂNTARA; MR; DALTIM, D. A química do processamento têxtil. **Química Nova**, n. 19, v. 3, 1996. p.320-330.
- ALI, DA; BADR EL-DIN, NK; ABOU-EL-MAGD, RF. Antioxidant and hepatoprotective activities of grape seeds and skin against Ehrlich solid tumor induced oxidative stress in mice. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, 2015, p. 1–12.
- ALMEIDA, AAF; VALLE, RR. Ecophysiology of the cacao tree. **Braz. J. Plant Physiol.**, n. 19, v. 4, 2007. p. 425–448.
- ALTMAN, PM. Australian tea tree oil - a natural antiseptic. **Australian Journal of Biotechnology**, n. 4, v. 3, 1989. p. 247-248.

- ALVARENGA, CAM; SIMÕES, TFC. Estudo das cores nos produtos: A interferência da cor na interface dos produtos alimentícios. **Anais Encontro Latinoamericano de Diseño - Universidad de Palermo**, 2009.
- AMARAL, RLG et al. Grau de satisfação de mulheres que usaram absorvente higiênico “respirável” externo por 75 dias consecutivos. **J bras Doenças Sex Transm**, n. 23, v. 1, 2011. p. 23-27.
- AMORIM, WS. **Estudo das características térmicas e mecânicas de formulações de adesivos PSA hot melt contendo variações de borrachas SBC e resinas taquificantes**. Monografia. Faculdade de Engenharia, UNESP, 2013.
- ANDERSEN et al. Anti-irritants II: Efficacy against cumulative irritation. **Contact Dermatitis**, n. 55, v. 3, 2006. p. 155-159.
- ANDERSON, JN; FENNESSY, PA. Can tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil prevent MRSA? **Med J Aust**, n. 173, 2000.
- ANON. Microencapsulation: for Enhanced Textile Performance. **Perform. Apparel Mark.**, n. 12, 2005. p. 21–39.
- ANVISA. **Formulário nacional da farmacopeia brasileira**. Brasília: ANVISA, 2012. 224 p.
- ANVISA. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Brasília: ANVISA, 2004. 52 p.
- ANVISA. **Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos**. Brasília: anvisa, 2003.
- AQIL, F et al. Bioavailability of phytochemicals and its enhancement by drug delivery systems. **Cancer Letters**, n. 334, 2013. p. 133–141.
- ARCE, L et al. Determination of trans-resveratrol and other polyphenols in wines by a continuous flow sample clean-up system followed by capillary electrophoresis separation. **Analytica Chimica Acta**, v. 359, 1998, p. 27-38.
- ARICHI, H et al. Effects of stilbene components of the roots of on lipid metabolism. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 30, n. 5, 1982, p. 1766-1770.
- ASBAHANI, AE et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 483, 2015. p. 220–243.
- ASSUMPTIÃO, ER. **Impregnação de diferentes tipos de tecidos de vestuário com nanopartículas de permetrina para ação repelente de insetos de longa duração**. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2012.

- BACKER, J; NORTON, P. Evaluation of absorbent products for women with mild to moderate urinary incontinence. **Applied Nursing Research**, n. 9, v. 1, 1996. p 29-36.
- BAGCHIA, D et al. Free radical scavenging, antioxidant and cancer chemoprevention by grape seed proanthocyanidin: An overview. *Mutation Research*, v. 768, 2014, p. 69–73.
- BAKER, CG. Moisturization: New methods to support time proven ingredients. **Cosmet Toilet**, n. 102, 1987. p. 99-102.
- BAKKALI, F et al. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, n. 46, 2008. p. 446–475.
- BALTINA, LA et al. Glycyrrhizic acid derivatives as influenza A/H1N1 virus inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, n. 25, 2015. p. 1742–1746.
- BARCHINO-ORTIZ; SUÁREZ-FERNÁNDEZ; LÁZARO-OCHAITA. Vulvar Inflammatory Dermatoses. **Actas Dermosifiliogr.**, n. 103, v. 4, 2012. p. 260–275.
- BARRY, BW. **Dermatological Formulation**. Percutaneous absorption. Drug and Pharmaceutical Science. New York: Marcel Dekker, v. 50, p. 480, 1983.
- BARTELS, NG et al. Effect of diaper cream and wet wipes on skin barrier properties in infants: a prospective randomized controlled trial. **Pediatric Dermatology**, n. 6, v. 31, 2014. p. 683–691.
- BAYDAR, NG et al. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera L.*) seed extracts. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, 2006, p. 799–804.
- BAYDAR, NG; OZKAN, G; YASAR, S. Evaluation of antiradical and antioxidant potential of grape extracts. **Food Control**, v. 18, 2007, p. 1131–1136.
- BCLEAN PROJECTS LTD. **A composition and dispenser for personal hygiene**. WO 2011083401 A2, 14 jul. 2011.
- BELGUENDOZ, L; FREMONT, L; LINARD, A. Interaction of transresveratrol with plasma lipoproteins. **Biochem. Pharmacol.** v. 55, 1998, p. 811 – 816.
- BELLA, ZIKJD et al. O uso de sabonetes íntimos femininos. **Femina**, n. 4, v. 37, 2009. p. 229–235.
- BERALDO, ECL. **Estudos de pré-formulação e desenvolvimento de preparações cosméticas**. Monografia. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, 2013.

- BERETTA, EM et al. Production, characterization and application of eicosane microcapsules in polyurethane foams as a means to improve thermal comfort of wheelchair users. **Journal of Engineering Science and Technology**, n. 12, v. 11, 2016. p. 1818-1834.
- BERTELLI, AAE et al. Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. **Int. J. Tiss. Reac.**, v. 17, 1995, p. 1-3.
- BHARGAVA, D; JAHAN, S. Cosmetic textile: an innovative alliance of textile and cosmetics. **China Textile Science**, 2012. p. 41-45.
- BLOND, JP; DENIS, MP; BEZARD, J. Antioxidant action of resveratrol in lipid peroxidation. **Sci. Aliment.**, v. 15, 1995, p. 347-358.
- BOH; KNEZ Microencapsulated antimicrobials on non-woven textiles for shoe insoles. In: **XVth International Workshop on Bioencapsulation**, 2007, p. 1-4.
- BOISITS, EK. The evaluation of moisturizing products. **Cosmet Toilet**, n. 101, 1986. p. 3-39.
- BOIXEDA, P et al. Future Prospects in Dermatologic Applications of Lasers, Nanotechnology, and Other New Technologies. **Actas Dermosifiliogr.** n. 106, v. 3, 2015. p. 168-179.
- BORIS, S; BARBÉS, C. Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens. **Microbes and Infection**, v. 2, 2000, p. 543-546.
- BORTOLUZZI, NL. Efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* no tratamento de feridas cicatrizadas por segunda intenção: relato de caso. In: **Anais do 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 2008.
- BOSKEY, ER et al. Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. **Hum. Reprod**, n. 16, 2001. p. 1809-1813.
- BRASIL. Portaria nº 1.480, de 31 de dezembro de 1990. Regulamento técnico para controle de produtos absorventes higiênicos descartáveis, de uso externo e intravaginal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 7 jan. 1991.
- BREHM-STECHER, BF; JOHNSON, EA. 2003 Sensitization of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to antibiotics by the sesquiterpenoids nerolidol, farnesol, bisabolol, and apritone. **Antimicrob Agents Chemother**, n. 10. 2003. p. 3357-3360.
- BROPHY, JJ et al. Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 37, 1989. p. 1330-1335.

- BUDHIRAJA, Biological Activity of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil Component, Terpinen-4-ol, in Human. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics**, n. 7, v. 22, 1999. p. 447-453.
- BUENO, K et al. *In vivo* gastroprotective effect of nanoparticles: influence of chemical composition and volume fraction. **Current Pharmaceutical Design**, n. 19, 2013. p. 7294-7300.
- CAELLI, M et al. Tea tree oil as an alternative topical decolonization agent for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Hospital Infection**, n. 46, 2000. p. 236–237.
- CAMPOS, R et al. Molecular Composition Dynamics and Structure of Cocoa Butter. **Crystal Growth and Design**, v. 10, 2010. p. 205–217.
- CARAMELLA, CM; ROSSI, S; FERRARI, F; BONFERONI, MC; SANDRI, G. Mucoadhesive and thermogelling systems for vaginal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 92, 2015. p. 39–52.
- CARSON, CF et al. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **J. Antimicrob. Chemother.**, n. 35, 1995. p. 421–424.
- CARSON, CF; HAMMER, KA; RILEY, TV. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, n. 1, v. 19, 2006. p. 50–62.
- CARSON, CF; RILEY, TV. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **J. Appl. Bacteriol.**, n. 78, 1995. p. 264-269.
- CARSON, CF; RILEY, TV; COOKSON, BD. Efficacy and safety of tea tree oil as a topical antimicrobial agent. **Journal of Hospital Infection**. v.40, 1998. p;175-178.
- CASTELO, AVM et al. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Chell, na região do Distrito Federal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, n. 1, v.8, 2013. p.143-147.
- CASTRO, AV et al. Morphological, biochemical, molecular and ultrastructural changes induced by Cd toxicity in seed lings of *Theobroma cacao* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 115, 2015. p. 174–186.
- CASTRO, C et al. Análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Árvore**, v. 29, n. 2, p. 241-249, 2005.
- CAVALCANTE, PB. Frutas Comestíveis da Amazônia. In: **Publicações Avulsas do Museu Goeldi**, n.33, 1979. p. 1-61.

- CAVALIERI, E et al. Alpha-Bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 315, 2004. p. 589-94, 2004.
- CEVC, G; VIÉRL, U. Nanotechnology and the transdermal route: a state of the art review and critical appraisal. **Journal of Controlled Release**, n. 141, 2010. p. 277–299.
- CHAIR, WFB et al., Final report on the safety assessment of citric acid, inorganic citrate salts, and alkyl citrate esters as used in cosmetics. **Cosmetic Ingredient Review**, 2012.
- CHANVITAYAPONGS, S; DRACZYNSKA-LUSIAK, B; SUN, AY. Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells. **Neuro report**, v. 8, 1997, p. 1499-1502.
- CHARLE, R et al. **Sanitary napkin having homogeneously distributed microcapsules filled with delay releasable bactericidal and fungicidal deodorant**. US3691271, 12 set. 1972.
- CHARLES, MPV et al. Aetiological agents of ventilator-associated pneumonia and its resistance pattern – a threat for treatment. **Australas Med J.**, n. 6, v. 9, 2013. p. 430–434.
- CHAVES et al. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. Carvedilol-loaded nanocapsules: Mucoadhesive properties and permeability across the sublingual mucosa. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, n. 114, 2017, p. 88-95.
- CHEAH, KY; HOWARTH, GS; BASTIAN, SEP. Grape seed extract dose-responsively decreases disease severity in a rat model of mucositis; concomitantly enhancing chemotherapeutic effectiveness in colon cancer cells. **PLoS ONE**, v. 9, 2014.
- CHEN, J; DAVIS, SS. The release of diazepam from poly(hydroxybutyrate-hydroxyvalerate) microspheres. **Journal of Microencapsulation**, n. 2, v. 19, 2002. p. 191-201.
- CHEN, JP; LEE, WL. Collagen-grafted temperature-responsive nonwoven fabric for wound dressing. **Applied Surface Science**, n. 255, 2008. p. 412–415.
- CHEN, KS et al. Immobilization of chitosan gel with cross-linking reagent on PNIPAAm gel/PP nonwoven composites surface. **Materials Science and Engineering C**, n. 25, 2005. p. 472–478.
- CHEN, KS et al. Long term water adsorption ratio improvement of polypropylene fabric by plasma pre-treatment and graft polymerization. **Polymer Journal**, n. 9, v. 38, 2006. p. 905–911.

- CHENG, SY et al. Systematic characterization of cosmetic textiles. **Textile Research Journal**, n. 80, v. 6, 2010. p. 524–536.
- CHINTA, SK et al. Medical textiles: application of essential oil as antimicrobial agent on nonwoven. **G.J.B.B.**, n. 1, v. 1, 2012. p. 75-80.
- CIOLINO, HP; DASCHNER, PJ; CHAO YEH, G. Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 *in vitro* by preventing activation of the aryl hydrocarbon receptor. **Cancer Res.**, v. 58, 1998, p. 5707-5712.
- CLEMENT, MV et al. Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. **Blood**, v. 92, 1998, p. 996-1002.
- COLOMÉ, LM et al. Theospheres based on *Theobroma grandiflorum* seed butter: development of innovative nanoparticles for skin application. **Soft Materials**, n. 8, v. 2, 2010. p. 72-88.
- CONTRI, RV et al. Combined effect of polymeric nanocapsules and chitosan hydrogel on the increase of capsinoids adhesion to the skin surface. **J Biomed Nanotechnol.** v. 10, 2014, p. 820–830.
- CORADINI, K et al. A novel approach to arthritis treatment based on resveratrol and curcumin co-encapsulated in lipid-core nanocapsules: *In vivo* studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 78, 2015, p. 163-170.
- CORD CONTRACT RESEARCH UND DEVELOPMENT GMBH., **Cleansing and personal hygiene towel for anal, genital and stomatal areas.** EP 0967865 A1, 5 jan. 2000.
- COSTA, A et al. Clinical, biometric and ultrasound assessment of the effects of daily use of a nutraceutical composed of lycopene, acerola extract, grape seed extract and biomarine complex in photoaged human skin. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 87, 2012, p. 52–61.
- COTTENDEN, AM. Incontinence pads: clinical performance, design and technical properties. **J. Biomed. Eng.**, n. 10, 1988. p.506-514.
- COTTRELL, BH. Vaginal douching. **J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.**, n. 32, v. 1, 2003. p. 12–18.
- CRUZ, LE. **Soap kit for women's intimate hygiene and composition of soap for the menstrual period.** US 20090209657 A1, 20 ago. 2009.
- CZAJKA, R. Development of Medical Textile Market, **Fibres Textiles East. Eur.**, n. 13, v. 1, 2005. p. 13–15.

- CZERWINSKI, BS. Feminine hygiene considerations for the space environment. In: D. Taylor & N.E Woods (Eds.), **Menstruation, health, and illness**. Washington, DC: Hemisphere Publishing Corporation, 1991. p. 65-71.
- D'AURIA, FD et al. In vitro activity of tea tree oil against *Candida albicans* mycelial conversion and other pathogenic fungi. **J. Chemother**, n. 13, 2001. p. 377–383.
- DANUTA KRUSZEWSKA. **Nanoproduct comprising lactobacillus reuteri dan080 useful in prophylaxis and medicine, both human and veterinary and medical use of the same**. WO2013180585 A1, 5 dez. 2013.
- DARRA, E et al. Insight into the apoptosis-inducing action of alpha-bisabolol towards malignant tumor cells: involvement of lipid rafts and Bid. **Arch Biochem Biophys**, n. 476, 2008. p. 113–123.
- DAS, S; CHAUDHURY, A. Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. **AAPS PharmSciTech.**, n. 12, 2011. p. 62–76.
- DAVIS, A et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* mutants expressing reduced susceptibility to common house-cleaners. **J. Appl. Microbiol.**, n. 98, 2005. p. 364–372.
- DAVIS, SC; PEREZ, R. Cosmeceuticals and natural products: wound healing. **Clinics in Dermatology**, n. 27, 2009. p. 502–506.
- DEDAVID, BA; GOMES, CI; MACHADO, G **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras**. Porto Alegre: EdiPUCRS, 2007.
- DENVER-COTIA. **Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos – FISPQ (2002): Natrosol® Hydroxyethylcellulose**. Disponível em: <<http://www.nicromquimica.com.br/down/Natrosol%20USA%20-%20Hidroxietylcelulose.pdf>>. Acesso em: 23 out. 2016.
- DERMAGE. **Lipovol RASP (Óleo de Framboesa)**. Disponível em: <<http://dermage.com.br/dermage/paginas/Estudo-oleo-de-Framboesa-Lipovol-RASP.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2015.
- DERRY, MM. et al. Characterization of azoxymethane-induced colon tumor metastasis to lung in a mouse model relevant to human sporadic colorectal cancer and evaluation of grape seed extract efficacy. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 66, 2014, p. 235–242.
- DESPHANDE, A; RHODES, CT; DANISH, M. Intravaginal drug delivery, **Drug Dev. Ind. Pharm.**, n 18, 1992. p. 1225–1279.
- DILLINGER, TL et al. Foods of the gods: cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. **J Nutr.**, n. 130, v. 8, 2000. p. 2057S-2072S.

- DINICOLA, S et al. Anticancer effects of grape seed extract on human cancers: A review. **Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis**, v. S8, 2014.
- DINICOLA, S et al. Apoptosis-inducing factor and caspase-dependent apoptotic pathways triggered by different grape seed extracts on human colon cancer cell line Caco-2. **British Journal of Nutrition**, v. 104, 2010, p. 824–832.
- DIVERDRUGS SL et al. **Peptide derivatives useful in the treatment, care or cleansing of the skin, mucosae, scalp or nails**. WO2009095456 A1, 6 ago. 2009.
- DIVERDRUGS SL; PUIG BEAUTY & FASHION GROUP S.L.; LIPOTEC, S.A.. **Peptide derivatives useful in the treatment, care or cleansing of the skin, mucosae, scalp or nails**. EP 2245045 A1, 3 nov. 2010.
- DRACZYNSKA-LUSIAK, B; DOUNG, SUN, AY. Oxidized lipoproteins may play a role in neuronal cell death in Alzheimer disease. **Mol. Chem. Neuropath.** v. 33, 1998, p. 139-148.
- DRAELOS, ZD. Therapeutic moisturizers. **Dermatologic Clinics**, n. 4, v. 18, 2000. p. 597-607.
- DRELICH, AH. Nonwoven Textile Fabrics (Staple Fibers). In: **Encyclopedia of Chemical Technology**, v. 16, 3a ed, 1981. p. 104-124.
- DU, Y; GUO, H; LOU, H. Grape seed polyphenols protect cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, 2007, p. 1695–1701.
- EHRETSMANN, C; SCHAEFER, P; ADAM, R. Cutaneous tolerance of baby wipes by infants with atopic dermatitis, and comparison of the mildness of baby wipe and water in infant skin. **European Academy of Dermatology and Venereology**, n. 15, v. 1, 2001. p. 16-21.
- EL-ASHMAWY, IM; SALEH, A; SALAMA, OM. Effects of marjoram volatile oil and grape seed extract on ethanol toxicity in male rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 101, 2007, p. 320–327.
- ELLEN AB. **Dermal composition for use in the external genital area in females**. WO 2014106541 A1, 10 jul. 2014.
- ELSOM, GKF; HIDE, D. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to tea tree oil and mupirocin. **J. Antimicrob. Chemother.**, n. 43, 1999. p 427–428.
- EMFAL. **Ficha de informação técnica: lauril éter sufosuccinato de sódio, 2015**. Disponível em: <http://www.emfal.com.br/alcool/_ArquivoProdutos/59010.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2016.

- ENGINAR, H et al. Effect of grape seed extract on lipid peroxidation, antioxidant activity and peripheral blood lymphocytes in rats exposed to x-radiation. **Phytotherapy Research**, v. 21, 2007, p. 1029–1035.
- ERNST, E; HUNTLEY, A. Tea tree oil: a systematic review of randomized clinical trials. **Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd**, n. 7, v. 1, 2000. p. 17-20.
- ETYMONLINE (Online Etymology Dictionary). **Vulva**. Disponível em: <<http://www.etymonline.com/index.php?search=vulva>>. Acesso em: 01 jul. 2015.
- EUR-Lex (access to European Union law). **Recomendação da Comissão de 18 de Outubro de 2011 sobre a definição de nanomaterial: 2011/696/UE**. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32011H0696>>. Acesso em: 08 mar. 2017.
- EUROMONITOR INTERNATIONAL. **Country Report: Sanitary Protection in the US**. London, UK: Euromonitor International, 2013. Disponível em: <<http://www.euromonitor.com/sanitary-protection-in-the-us/report>>. Acesso em: 24 nov. 2014.
- FAGRON. **Alfa-bisabolol natural**. Material Técnico. Disponível em: <http://cdn.fagron.com.br/doc_prod/docs_1/doc_68.pdf>. Acesso em: 02 mai 2015.
- FALKOWSKI, J et al. **Method for finishing textiles with skin-care oils**. US 7993664 B2, Aug. 9, 2011.
- FAO (Food and Agriculture Organization). **Citric acid**, 1999. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-135.pdf>>. Acesso em: 13 mai. 2015.
- FAO. **Flavours and Fragrances of Plant Origin**, 1995. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/V5350E/V5350E00.htm>>. Acesso em: 5 mar. 2015.
- FARAGE, M; MAIBACH, HI. The vulvar epithelium differs from the skin: implications for cutaneous testing to address topical vulvar exposures. **Contact Dermatitis**, n. 51, v. 4, 2004. p. 201–209.
- FARAGE, MA et al. A randomized trial to assess cutaneous effects of feminine hygiene wet wipes. **The Journal of Reproductive Medicine**, n. 53, 2008. p. 765-773.
- FARAGE, MA et al. Do panty liners promote vulvovaginal candidiasis or urinary tract infections? A review of the scientific evidence. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, n. 132, 2007. p. 8–19.

- FARAGE, MA. Development of a modified forearm controlled application teste method for evaluating the skin mildness of disposable wipe products. **Journal of Cosmetic Science**, n. 51, 2000. p. 153.
- FARAGE, MA; LENNON, L. Products for vulvar hygiene. In: FARAGE, MA; MAIBACH, HI (org.), **The vulva: anatomy, physiology and pathology**. London: Informa Healthcare, 2006. p. 217-234.
- FARAGE, MA; LENNON, L; AJAYI, F. Products used on female genital mucosa. **Curr Probl Dermatol.**, n. 40, 2011. p. 90-100.
- FARAGE, MA; MILLER, KW; LEDGER, WJ. Changes in vulvar physiology and skin disorders with age and benefits of feminine wipes in postmenopausal women. In: Farage, MA; Miller, KW; Maibach, HI (ed.) **Textbook of Aging Skin**. Berlin: Springer, 2010.
- FAUCONNEAU, B et al. Minireview: Biological Effects Of Resveratrol. **Life Sci.**, 1997, p. 612103-2110.
- FEBRASGO. **Guia prático de condutas: Higiene Genital Feminina**. São Paulo: FEBRASGO, 2009.
- FEEDBACK TRAYER SL. **Intimate feminine hygiene product for application to vaginal region, comprises red myrtle extract, bisabolol and lactic acid**. ES2334746-A1, 2010.
- FURIGA, A; LONVAUD-FUNEL, A; BADET, C. *In vitro* study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract. **Food Chemistry**, v. 113, 2009, p. 1037–1040.
- FISHER, G. Medical and Hygiene Textiles: Continuing in Good Health. **Tech. Textiles Int.**, n. 11, v. 3, 2002. p. 10–16.
- FITOLON-NAUKA LLC; FITOLON-NAUKA CO LTD. **Use of a natural coniferous aqueous extract in a composition for a female intimate hygiene, and for the prevention or treatment of gynecological diseases**. RU2011148879-A. 10 jun. 2013.
- FLECK, CA; NEWMAN, M. Advanced Skin Care: A Novel Ingredient. **Journal of the American College of Clinical Wound Specialists**, n. 4, 2012. p. 92–94.
- FLYNN, TC et al. Dry Skin and Moisturizers. **Clinics in Dermatology**, n. 19, 2001. p. 387-392.
- FONSÊCA, SGC. **Farmacotécnica de fitoterápicos**. Laboratório de Farmacotécnica, UFC, 2005.

- FORGEARINI, JC. **Desenvolvimento de um spray repelente de insetos de uso têxtil contendo nanocápsulas de núcleo lipídico contendo permetrina.** Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2014.
- FRANK, LA et al. Chitosan gel containing polymeric nanocapsules: a new formulation for vaginal drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, n. 9, 2014. p. 3151–3161.
- FRANK, LA et al. The use of chitosan as cationic coating or gel vehicle for polymeric nanocapsules: Increasing penetration and adhesion of imiquimod in vaginal tissue. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, n. 114, 2017, p. 202-212.
- FRANKEL, EN; WATERHOUSE, AL; KINSELLA, JE. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. **Lancet**, v. 341, 1993, p. 1103 - 1104.
- FREMONT, L; BELGUENDOZ, L; DELPAL, S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. **Life Sci.**, v. 64, 1999, p. 2511-2521.
- FRIEDMAN, M; WOLF, R. Chemistry of soaps and detergents: various types of commercial products and their ingredients. **Clin Dermatol**, n. 14, v. 1, 1996. p. 7-13.
- GARAY, HM et al. Degradação seletiva de proteínas e suas implicações no câncer. **Rev. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 30, 2003.
- GAROZZO et al., Activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on influenza virus A/PR/8: study on the mechanism of action. **Antiviral Research**, n. 89, 2011. p. 83–88.
- GEORGIEV, V; ANANGA, A; TSOLOVA, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. **Nutrients**, v. 6, 2014, p. 391–415.
- GEORGIEV, V; ANANGA, A; TSOLOVA, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. **Nutrients**, v. 6, 2014, p. 391–415.
- GIRALDO, PC et al. The effect of “breathable” panty liners on the female lower genital tract. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, n. 115, 2011. p. 61–64.
- GRAY, BF; MINOGUCHI, R; P&G. **Absorbent article with skin care composition.** WO 2000069483 A1, 23 nov. 2000.
- GUERRA, AT; CARRILLO, RG; RODRÍGUEZ, JLP. Vulva normal. In: **Manual y atlas de las enfermedades de la vulva.** Barcelona: Glosa, 2006. p. 13-5.
- GÜLÇİN, I. Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, 2010, p. 210–218.

- GUPTA, BS. Fluid Absorption in High Bulk Nonwovens. In Chatterjee & Gupta (Org.), **Absorbent Technology**. Elsevier. 2002. p. 93-128.
- GUPTA, BS; SMITH, KK. Nonwovens in Absorbent Materials. In Chatterjee & Gupta (Org.), **Absorbent Technology**. Elsevier. 2002. p. 349-388.
- GUSTAFSON, JE et al. The bacterial multiple antibiotic resistant (Mar) phenotype leads to increased tolerance to tea tree oil. **Pathology**, n. 33, 2001. p. 211–215.
- HABA, E et al. Rhamnolipids as emulsifying agents for essential oil formulations: antimicrobial effect against *Candida albicans* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 476, 2014. p. 134–141.
- HAEFNER, H. Vulvar Anatomy. In: **Obstetric and Gynecologic Dermatology**. 3rd ed. London: Mosby Elsevier, 2008. p. 124-31.
- HAMMER, KA; CARSON, CF. 2011. **Antibacterial and Antifungal Activities of Essential Oils in Lipids and essential oils as antimicrobial agents**. John Wiley & Sons: United Kingdom, 2011.
- HART, PH et al. Terpinen-4-ol, the main component of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. **Inflamm Res**, n. 2000. p. 619-626.
- HASSIOTIS, CN et al. Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. **Industrial Crops and Products**, n. 62, 2014. p. 359–366.
- HEINRICH, U et al. Long-term ingestion of high flavanol cocoa provides photoprotection against UV induced erythema and improves skin condition in women. **J Nutr.**, n. 136, 2006. p. 5-9.
- HELLSTROM, L et al. Selecting the correct incontinence pad in nursing home patients by pad weighing. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, n. 18, 1994. p. 125-132.
- HENKEL&CO AG KGAA. **Cosmetic composition, useful e.g. cleaning the skin, mucous membranes and the hair, comprises triglyceride, polyol, ester oil, gelling agent, sweet grass extract and surfactant**. DE102011088928-A1. 30 ago. 2012.
- HILLIS, WE; HART, JH; YAZAKI, Y. Polyphenols of *Eucalyptus sideroxylon*. **Phytochemistry (Oxford)**, v. 13, n. 8, 1974, p. 1591-1595.
- HONG, Y et al. Electrospinning of multicomponent ultrathin fibrous nonwovens for semi-occlusive wound dressings. **Journal of Biomedical Materials Research**, Part A, 2008. p. 345-354.

- HUTTEN, IM. Raw materials for nonwoven filter media. In: **Handbook of nonwoven filter media**. Elsevier Science, 2007. p. 103-194.
- ICCO. **Monthly Review of the Market 2013**. Disponível em: <http://www.icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/cat_view/67-monthly-review-of-the-market-2013.html>. Acesso em: 13 mai. 2014.
- INCA. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. Rio de Janeiro: INCA, 2011.
- INMETRO. **Absorventes Higiênicos (Externos e Intravaginais)**, 1998. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/absorventes.asp#normas>>. Acesso em: 7 nov. 2014.
- INOVAM. **Manteiga de Cacau**. Disponível em: <http://inovam.com.br/manteiga_cacau.htm>. Acesso em: 12 mai. 2015.
- IST FARMACOLOGICO SERONO SPA. **Compositions for feminine intimate hygiene - contg. a specific antiseptic.g. acetic acid-sodium acetate buffer and a nutrient medium for lactobacillus acidophilus**. DE3244321-A, 30 jun. 1983.
- JAKOVLEV, V; VON SCHLICHTEGROLL, A. 1969 On the inflammation inhibitory effect of (-)-alpha-bisabolol, an essential component of chamomilla oil. **Arzneimittelforschung**, n. 19, v. 4, 1969. p. 615-616.
- JANG, M et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. **Science**. v. 275, n. 5297, 1997, p. 218-220.
- JANG, MS et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. **Science**, v. 275, 1997, p. 218-220.
- JEAN-CHRISTOPHE SERGERE. **Tea tree oil derivatives**. US 20130158127 A1, 20 jun. 2013.
- JENNING, V; LIPPACHER, A, GOHLA, SH. Medium scale production of solid lipid nanoparticles (SLN) by high pressure homogenization. **J Microencapsul.**, n. 19, 2002. p. 1-10.
- JUNQUEIRA, LC; CARNEIRO, J. **Histologia básica – texto/atlas**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488p.
- KAN, CW; YUEN, CWM. Cosmetic Textiles. **Textile Asia**, n. 36, v. 6, 2005. p. 29-35.
- KAR, P et al. Effects of grape seed extract in type 2 diabetic subjects at high cardiovascular risk: A double blind randomized placebo controlled trial examining metabolic markers,

- vascular tone, inflammation, oxidative stress and insulin sensitivity. **Diabetic Medicine**, v. 26, 2009, p. 526–531.
- KATZER, T et al. Prednisolone-loaded nanocapsules as ocular drug delivery system: development, in vitro drug release and eye toxicity. **Journal of Microencapsulation**, v. 31, n. 6, 2014.
- KEIR, L; WISE, BA; KREBS, C. **Medical Assisting: Administrative and Clinical Competencies**. Clifton Park, NY: Delmar Learning, 2011. Disponível em: <<https://www.cengagebrain.com.mx/content/9781133722526.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2015.
- KHAN, AW et al. Potentials and challenges in self nanoemulsifying drug delivery systems. **Expert Opin Drug Deliv.**, n. 9, 2012. p. 1305–17.
- KIMBERLY-CLARK CORPORATION. Sanitary napkin with malodor counteractant means. US 4547195, 15 out. 1985.
- KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE INC. **Preparation of composite for use in absorbent article, involves covering superabsorbent material with intimately associated coating material by introducing respective particles separately into flowing gas stream**. WO200062922-A1, 26 out. 2000A.
- KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE INC. **Superabsorbent-containing composite for use in disposable absorbent articles, comprises stiff-gelling superabsorbent particles covered with intimate layer of coating material particles**. WO200062825-A2, 26 out. 2000B.
- KIMURA, Y et al. Effects of stilbene components of roots of *Polygonum ssp.* on liver injury in peroxidised of oil fed rats. **Planta Med.**, v. 49, n. 1, 1983, p. 51-54.
- KIMURA, Y; OKUDA K; ARICHI, S. Effects of stilbenes on arachidonate metabolism in leukocytes. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 834, 1985, p. 275-278.
- KLEHR N W. **Use of whey in cleaning and care compsn. - for feminine hygiene, using careful control of pH**. DE3924559-A, 16 mai. 1991.
- KORNHAUSER, A; COELHO, SG; HEARING, VJ. Effects of cosmetic formulations containing hydroxyacids on sun-exposed skin: current applications and future developments. **Dermatology Research and Practice**, 2012.
- KRUSZEWSKA, D. **Nanoproduct comprising lactobacillus reuteri dan080 useful in prophylaxis and medicine, both human and veterinary and medical use of the same**. WO 2013180585 A, 5 dez. 2013.

- KUBO, M et al. Studies on the antifungal substance of crude drug: 2. On the roots of *Polygonum cuspidatum* (Poligona-ceae). **Shoyakugaku Zasshe**, v. 35, n. 1, 1981, p. 58-61.
- KUMAMOTO, Y; IWASAKI, A. Unique features of antiviral immune system of the vaginal mucosa. **Curr Opin Immunol.**, n. 24, v. 4, 2012. p. 411–416.
- LABORATOIRES EXPANSCIENCE. **Lupin total extract consisting of a lupin sugar extract and a lupin peptide extract, method for the production and use thereof.** US8734865 B2, 27 maio 2014.
- LALKO, J; API, AM. Investigation of the dermal sensitization potential of various essential oils in the local lymph node assay. **Food Chem Toxicol.** n. 44, v. 5, 2006. p. 739-746.
- LAM H. **Female sanitary pad, is attached with disposable/flushable wrapped single pack wet wipe by gluing process, where wet wipe is placed gently on female intimate area, pH balanced and alcohol and fragrance free.** AU2012101775-A4, 24 jan. 2013.
- LAN, Y et al. Essential oil from *Zanthoxylum bungeanum Maxim.* and its main components used as transdermal penetration enhancers: a comparative study. **J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol)**, n. 15, v. 11, 2014. p. 940-952.
- LANG, G; BUCHBAUER, G. A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, n. 27, v. 1, 2012. p. 13–39.
- LANGCAKE, P; CORNFORD, CA; PRYCE, RJ. Identification of pterostilbene as a phytoalexin of *Vitis vinifera* leaves. **Phytochemistry**, v. 18, n. 6, 1979, p. 1025-1028.
- LEONARDI, GR. **Cosmetologia Aplicada**. 1. ed. São Paulo: Medfarma, 2004.
- LIENDO, R; PADILHA, FC; QUINTANA, A. Characterization of cocoa butter extracted from Criollo cultivars of *Theobroma cacao L.* **Food Research International**, n. 9, v. 30, 1997. p. 727-731.
- LIPOTEC SA. **Peptides which inhibit activated receptors and their use in cosmetic or pharmaceutical compositions.** WO 2013064583 A1, 31 out. 2012.
- LIPP, M; ANKLAM, E. Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate-Part A. **Compositional data Food Chemistry**, v. 62, n. 1, 1998. p. 73-97.
- LOPES, WA; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Quim. Nova**, n. 4, v. 27, 2004. p. 670-673.

- LUTHER, M et al. Inhibitory effect of chardonnay and black raspberry seed extracts on lipid oxidation in fish oil and their radical scavenging and antimicrobial properties. **Food Chemistry**, v. 104, 2007, p. 1065–1073.
- MAPRIC. **Lauril éter sufosuccinato de sódio, 2015**. Disponível em: <http://www.mapric.com.br/anexos/boletim677_07102010_135056.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2016.
- MARFARMA HOLDING S.P.A. **Compositions for vaginal use**. EP1348439 A1, 1 out. 2003.
- MARKHAM, JL. Biological activity of tea tree oil. In: SOUTHWELL, I; LOWE, R. (Org.) **Tea Tree, the Genus Melaleuca**. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 1999. p. 169-190.
- MARTEL-ESTRADA, SA et al. Biocompatibility of chitosan/*Mimosa tenuiflora* scaffolds for tissue engineering. **Journal of Alloys and Compounds**, 2015.
- MAY, J et al. Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. **J. Antimicrob. Chemother.**, n. 45, 2000. p. 639–643.
- MCCLISH, DK et al. Use and costs of incontinence pads in female study volunteers. **JWOCN**, n. 4, v. 26, 1999. p. 207-213.
- MCNEIL-PPC INC; JOHNSON & JOHNSON. **Liq. vaginal hygiene compsn. contg. fatty acid ester - of poly:ol, e.g. glyceryl mono:laurate, to inhibit toxin prodn. by staphylococci and streptococci**. EP483835-A, 06 mai. 1992.
- MEDICIS PHARM CORP et al. **Composition, useful for treating skin condition including dermatosis, pruritis, psoriasis, seborrhea, contact dermatitis, rosacea, atopic dermatitis and skin inflammation, comprises flunisolide and solubilizing agent**. WO2014145067-A1, 18 set. 2014.
- MEHNERT, W; MÄDER, M. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n. 47, v. 3, 2001. p. 165-169.
- MESTRINER, F. **Design de embalagem: curso avançado**. São Paulo: Prentice Hall, 2002.
- MGBONYEBI, OP; RUSSO, J; RUSSO, IH. Antiproliferative effect of synthetic resveratrol on human breast epithelial cells. **Int. J. Oncol.**, v. 12, 1998, p. 865-869.
- MIBELLE AG. **Wet wipes with vitex agnus castus extract for feminine personal care**. EP1980241 A2, 15 out. 2008.
- MICROCAPSULES TECHNOLOGIES. **Absorbent article such as pantiliner and tampon, useful to control and/or reduce odor of bodily fluids, preferably urine, comprises microcapsules from material derived from natural polymer and loaded with active agent, and release agent**. EP2774669-A2, 10 set. 2014.

- MIDDLETON JR, E; KANDASWAMI, C; THEOHARIDES, TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacol Rev.**, n. 52, 2000. p. 673-751.
- MIHRANYAN, A; FERRAZ, N; STRØMME, M. Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics. **Progress in Materials Science**, n. 57, 2012. p. 875–910.
- MILLAR, BC; MOORE, JE. Successful topical treatment of hand warts in a paediatric patient with tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*). **Complementary Therapies in Clinical Practice**, n. 14, 2008. p. 225–227.
- MISHRA, PR et al. Production and characterization of Hesperetin nanosuspensions for dermal delivery. **Int. J. Pharm.**, n. 371, 2009. p. 182–189.
- MOLLY, D et al. Characterization of azoxymethane induced colon tumormetastasis to lung in amousemodel relevant to human sporadic colorectal cancer and evaluation of grape seed extract efficacy. **Experimental and Toxicological Pathology**, v. 6, 2014, p. 235–242.
- MOLVA, C; BAYSAL, AH. Antimicrobial activity of grape seed extract on Alicyclobacillus acidoterrestris DSM 3922 vegetative cells and spores in apple juice. **LWT — Food Science and Technology**, v. 60, 2015, p. 238–245.
- MONDELLO, F et al. Determination of Legionella pneumophila susceptibility to *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil by an improved broth micro-dilution method under vapour controlled conditions. **Journal of Microbiological Methods**, n. 77, 2009. p. 243–248.
- MONDELLO, F et al. In vitro and in vivo activity of tea tree oil against azole-susceptible and resistant human pathogenic yeasts. **J. Antimicrob. Chemother.**, n. 51, 2003. p. 1223–1229.
- MONEY, ME. **Bacteriostatic sanitary napkin**. US 3732867, 15 mai. 1973.
- MOORE, M. Facility shows positive outcomes when cupuacu butter products, prevention system in place and skin team established and used. In: **Wild on Wounds Conference**, Las Vegas, Nevada, 2012.
- MORIN, B. et al. Effect of dietary fat-soluble vitamins A and E and proanthocyanidin-rich extract from grape seeds on oxidative DNA damage in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, 2008, p. 787–796.
- MORITZ, M; GESKE-MORITZ, M, The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles. **Chemical Engineering Journal**, n. 228, 2013. p. 596–613.

- MÜLLER, BW. Factors which are influencing the drug liberation as well as topical effects. In: **Suppositoria Wissenschaftl.** Verlagsges: Stuttgart, 1986. p. 272–275.
- MÜLLER, RH. et al. Phagocytic uptake and cytotoxicity of solid lipid nanoparticles (SLN) sterically stabilized with poloxamine 908 and poloxamer 407. **J Drug Target.**, n. 4, 1996. p. 161–70.
- MÜLLER, RH. Lipid nanoparticles: recent advances. **Adv. Drug Deliv.** n. 59, 2007. p. 375–376.
- MÜLLER, RH; MADER, K; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, 2000, p. 161-177.
- MURGA, R et al. Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, 2000, p. 3408–3412.
- NASSIRI-ASL, M; HOSSEINZADEH, H. Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive compounds. **Phytotherapy Research**, v. 23, 2009, p. 1197–1204.
- NATURAL SOURCING. **Cupuacu Butter MSDS**. Disponível em: <http://www.naturalsourcing.com/msds/MSDS_Cupuacu_Butter_Ultra_Refined.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2015.
- NELSON, RRS. In-vitro activities of five plant essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. **J. Antimicrob. Chemother.**, n. 40, 1997. p. 305–306.
- NELSON, RRS. Selection of resistance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* in *Staphylococcus aureus*. **J. Antimicrob. Chemother.**, n. 45, 2000. p. 549–550.
- NENOFF, P; HAUSTEIN, UF; BRANDT, W. Antifungal activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) against pathogenic fungi in vitro. **Skin Pharmacol.** n. 9, v. 6, 1996. p 388-394.
- NEVES, J. et al. Polymer-based nanocarriers for vaginal drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2015, n. 92, 53-60.
- NOGUEIRA, ACS et al. Performance of Cupuassu products in hair and skin care applications. In: **Skin Care Forum** (2008). Disponível em: <<http://www.skin-care-forum.basf.com/en/author-articles/performance-of-cupuassu-products-in-hair-care-applications/2008/07/11?id=62404b9d-11fe-48ed-8a2c-50e05123a705&mode=Detail>>. Acesso em: 4 mai. 2015.

- NOHYNEK, GJ et al. Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. **Toxicology and Applied Pharmacology**, n. 243, 2010. p 239–259.
- NORONHA, CM. **Incorporação de nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona) contendo α -tocoferol em biofilmes de metilcelulose**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, UFSC, 2012.
- NOVAERA. **Diferenciais dos cosméticos**. Disponível em: <<http://www.novaerahomeopatia.com.br/nossos-diferenciais/diferenciais-dos-cosmeticos>>. Acesso em: 23 out. 2016.
- NOWSHEHRI, JA; BHAT, ZA; SHAH, MY. Blessings in disguise: Bio-functional benefits of grape seed extracts. **Food Research International**, v. 77, 2015, p. 333–348.
- OKADA, H; YASHIKI, T; MIMA, H. Vaginal absorption of a potent luteinizing hormone-releasing hormone analog (leuprolide) in rats: III. Effect of estrous cycle on vaginal absorption of hydrophilic model compounds. **J. Pharm. Sci.**, n. 72, 1983. p. 173–176.
- OLAKU, OO et al. The role of grape seed extract in the treatment of chemo/radiotherapy induced toxicity: A systematic review of preclinical studies. **Nutrition and Cancer**, v. 67, 2015, p. 730–740.
- OLIVA, B. et al. Antimycotic activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and its major components. **Letters in Applied Microbiology**, v.37, 2003. p.185-187.
- OLIVEIRA, VB et al. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, n. 48, 2012. p. 170–179.
- ONO, M. **Design e cultura: sintonia essencial**. Curitiba: Editora do autor, 2006.
- ORSINI, F et al. Isolation synthesis, and antiplatelet aggregation activity of resveratrol 3-O- β -D-glucopyranoside and related compounds. **J. Nat. Prod.**, v. 60, 1997, p. 1082-1087.
- P&G. **Absorbent article having a lotion composition and a method of making same**. WO2014100068 A1, 26 jun. 2014.
- P&G. **Composition, useful in absorbent article e.g. diaper, training pant and absorbent article for feminine hygiene, comprises cooling agent, e.g. ketals or camphor, and polyethylene glycol or mixture of different polyethylene glycols**. EP2535061-A1, 19 dez. 2012.
- P&G. **Sanitary napkin - with perfume filled microcapsules in adhesive layer on backsheet to release perfume diffusively during wear and to rupture with fragrance burst on removal from undergarment**. US5591146-A, 7 jan. 1997B.
- P&G. **Sanitary napkin with perfume-baring microcapsule adhesive**. US5591146, 7 jan. 1997A.

- PACE-ASCIK, CR et al. Antiplatelet activity of cis-resveratrol. **Clin. Chim. Acta**, v. 235, 1995, p. 207-219.
- PACE-ASCIK, CR et al. Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subject. **Clinica Chimica Acta**. v. 246, n. 1-2, 1996, p. 163-182.
- PALLARÈS, V et al. Effects of grape seed procyanidin extract over low-grade chronic inflammation of obese Zucker fa/fa rats. **Food Research International**, v. 53, 2013, p. 319–324.
- PARDEIKE, J; HOMMOSS, A; MÜLLER, RH. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 366, 2009. p. 170–184.
- PARK, SY et al. Grape seed extract regulates androgen receptor-mediated transcription in prostate cancer cells through potent anti-histone acetyltransferase activity. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, 2011, p. 9–16.
- PATEL, DA et al. Risk factors for recurrent vulvovaginal candidiasis in women receiving maintenance antifungal therapy: Results of a prospective cohort study. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, n. 190, 2004. p. 644-653.
- PATRAVALE, VB; DATE, AA; KULKARNI, RM. Nanosuspensions a promising drug delivery strategy. **J. Pharm. Pharmacol.**, n. 56, 2004. p. 827–840.
- PAULI, A. α -Bisabolol from Chamomile – A specific ergosterol biosynthesis inhibitor? **The International Journal of Aromatherapy**, n. 16, 2006. p. 21–25.
- PERSONAL PROD CO. **Sanitary napkin with deodorant microcapsules - between release layer and pressure sensitive adhesive garment attachment element**. US4186743-A, 5 fev. 1980.
- PINTO, MC.; GARCÍA-BARRADO, JA.; MACÍAS, P. Resveratrol is a Potent Inhibitor of the Dioxygenase Activity of Lipoxygenase. **J. Agric. Food. Chem.** v. 47, 1999, p.4842-4846.
- POHLMANN, M. Design and Materials Selection: analysis of similar sanitary pads for daily use. **Int. Journal of Engineering Research and Application**, v. 6, n. 11, 2016, p.74-79.
- POHLMANN, M; PAESE, K; GUTERRES, SS. Production, characterization and impregnation of nanostructured lipid carriers of cupuaçu butter (*T. grandiflorum*), alpha -bisabolol, tea tree oil (*M. alternifolia*) and citric acid in nonwoven fabric. **International Journal of Engineering and Technical Research**, n. 2, v. 6, 2016, p. 12-18.

PONTES, AC et al., A systematic review of the effect of daily panty liner use on the vulvovaginal environment. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, n. 127, 2014. p. 1–5.

PRASAD, R; KATIYAR, SK. Grape seed proanthocyanidins inhibit migration potential of pancreatic cancer cells by promoting mesenchymal-to-epithelial transition and targeting NF- κ B. **Cancer Letters**, v. 334, 2013, p. 118–126.

PRINTI. **A tipografia e suas fontes fundamentais**. Disponível em: <<https://www.printi.com.br/blog/tipografia-e-suas-fontes-fundamentais>>. Acesso em: 18 set. 2016.

PROCTER & GAMBLE CO et al. **Disposable absorbent articles such as pantliners, sanitary napkins, diaper, incontinent pad, human or animal waste management device, comprises cationic polysaccharide and acidic pH buffering material**. EP1149593-A1, 31 out. 2001A.

PROCTER & GAMBLE CO et al. **Disposable absorbent articles such as pantliners, sanitary napkins, diaper, incontinent pad, human or animal waste management device, comprises cationic polysaccharide and acidic pH buffering material**. EP1149593-A1, 31 out. 2001B.

PROCTER & GAMBLE CO. **Absorbent article for use as e.g. tampon comprises at least an oxidizing agent with specified reduction potential together with a hemolytic agent**. WO200051655-A1, 8 set. 2000A.

PROCTER & GAMBLE CO. **Absorbent article for use e.g. sanitary napkin containing an odor control system comprises at least one oxidizing agent together with at least one chelating agent**. WO200051651-A1, 8 set. 2000B.

PROCTER & GAMBLE CO. **Article such as disposable absorbent article, sanitary napkin, pantliner, tampon, diaper, incontinent pad, breast pad, perspiration pad, comprises chitosan material and ionic absorbent gelling material**. KR2002093080-A, 12 dez. 2002.

PROCTER & GAMBLE CO. **Article, i.e. disposable absorbent article, comprises spore-forming lactic acid-producing microorganism for long lasting antagonistic properties against undesirable strains of microorganisms**. EP1118342-A1, 25 jul. 2001.

PROCTER & GAMBLE CO. **Articles such as absorbent disposable article having odor control material for controlling odor from bodily fluids comprise peroxyacid**. WO200051657-A1, 8 set. 2000C.

- PROCTER & GAMBLE CO. **Articles such as disposable absorbent article having odor control system for controlling odors from bodily fluids, comprise water soluble oxidizing agent(s) and emulsifier.** WO200051653-A1 08 set. 2000D.
- PURDY, AT. Developments in Nonwoven Fabrics. **Textile Progress**, n. 12, The Textile Institute, 1983.
- QUIJANO, CE; PINO JA. Volatile compounds of copoazú (*Theobroma grandiflorum Schumann*) fruit. **Food Chem**, n. 104, v. 11, 2007. p. 23–26.
- RAMPERSAUD, R; RANDIS, TM; RATNER, AJ. Microbiota of the upper and lower genital tract. **Seminars in Fetal & Neonatal Medicine**, n. 17, 2012. p. 51-57.
- RHODES, PL et al. Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety Ribier. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107, 2006, p. 281–286.
- RICHARDSON, JL; ILLUM, L. The vaginal route of peptide and protein drug delivery, **Adv. Drug Deliv. Rev**, n. 8, 1992. p. 341–366.
- ROBBERS, JE; SPEEDIE, MK; TYLER, VE. **Farmacognosia e farmacobiotechnologia**. São Paulo: Premier, 1997. 327p.
- ROSSI, WS. **Estudo de aplicações e testes de durabilidade de microcápsulas em tecidos**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Design, UFRGS, 2012.
- ROTTAPHARM S.P.A. **A composition for intimate hygiene**. EP2236127 A1, 6 out. 2010.
- ROY, S et al. Vaginal pH is similar to follicle-stimulating hormone for menopause diagnosis. **Am J Obstet Gynecol**, n. 190, v. 5, 2004. p. 1272-7.
- RUNEMAN, B et al. The vulva skin microclimate: influence of panty liners on temperature, humidity and ph. **Acta derm venereol**, n. 83, 2003, p. 88–92.
- SAFARI, J; ZARNEGAR, Z. Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design A review. **Journal of Saudi Chemical Society**, n. 18, 2014. p. 85–99.
- SAKANO, K et al. Procyanidin B2 has anti- and pro-oxidant effects on metal-mediated DNA damage. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 39, 2005, p. 1041–1049.
- SALEM, V. **Tingimento Têxtil: fibras, conceitos e tecnologias**. São Paulo: Blücher, 2010.
- SANCHES, AB. **Aplicação da análise do valor global de um resíduo na fabricação de produtos descartáveis higiênicos em uma empresa do Rio Grande do Sul**. Dissertação. Curso de Mestrado Profissionalizante em Engenharia, UFRGS, 2004.

- SANO, A; TOKUTAKE, S; SEO, A. Proanthocyanidin-rich grape seed extract reduces leg swelling in healthy women during prolonged sitting. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, 2013, p. 457–462.
- SANOFI AVENTIS FARMACÊUTICA LTDA. **Prolonged action intimate hygiene composition, method for producing same and use thereof**. WO2014012156 A1, 23 jan. 2014.
- SAUERMAN G. **Feminine hygiene article, useful for the prevention and fight against candidiasis, comprises vitamin B12, vitamin B12 synthesis promoting substances, folic acid, vitamin B6, zinc oxides, cobalt, dimethylbenzimidazole and biotin**. DE102006030031-A1, 3 jan. 2008.
- SAUTTER, CK et al. Determinação de resveratrol em sucos de uva no brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 3, 2005, p. 437-442.
- SCA HYGIENE PROD AB. **Hygiene product such as panty liner, sanitary towel or incontinence pad**. WO2014/092623 A1, 19 jun. 2014.
- SCHÄFER-KORTING, M; MEHNERT, W; KORTING, H. Lipid nanoparticles for improved topical application of drugs for skin disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, 2007, p. 427-443.
- SCHAFFAZICK, SR et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, 2003. p. 726-737.
- SCHNEIDER, Y et al. Anti-proliferative effect of resveratrol, a natural component of grapes and wine, on human colonic cancer cells. **Cancer Letters**, v. 158, 2000, p. 85-91.
- SCRANTON, A. **Chem Fatale: Potential Health Effects of Toxic Chemicals in Feminine Care Products**. Missoula: Women's Voices for the Earth (2013). Disponível em: <<http://goo.gl/Bglwdu>>. Acesso em: 03 mar. 2015.
- SEAL, S; KARN, B. Safety aspects of nanotechnology based activity. **Saf Sci**. v. 63, 2014, p. 217–225.
- SENGUPTA, M; SHARMA, GD; CHAKRABORTY, B. Hepatoprotective and immunomodulatory properties of aqueous extract of *Curcuma longa* in carbon tetra chloride intoxicated Swiss albino mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 2011. p. 193-199.

- SHARMA, N. Superiority of essential oil mouthrinse when compared with a 0.05% cetylpyridinium chloride containing mouthrinse: a six-month study. **Int Dent J.** n. 60, v. 3, 2010. p. 175-180.
- SHENZHEN YANQIAN TECHNOLOGY CO LTD. **Wet tissue for female private care comprises nano silver solution, watersoluble vitamin E, hyaluronic acid, lauric acid modified superoxide dismutase, chamomile pure, pearl hydrolyzing liquid, and gleditsia sinensis extract.** CN103340816-A. 09 out. 2013.
- SHROTRIYA, S et al. Generation of reactive oxygen species by grape seed extract causes irreparable DNA damage leading to G2/M arrest and apoptosis selectively in head and neck squamous cell carcinoma cells. **Carcinogenesis**, v. 33, 2012, p. 848–858.
- SILVA, APFC. **Distinção de gênero e design gráfico de embalagens de produtos de higiene pessoal.** Anais VIII Congresso Iberoamericano de Ciência, Tecnologia e Gênero, 2010.
- SILVA, GA. Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. **Surgical Neurology**, v.61, 2004. p.216-220.
- SILVA, MB et al. Development of natural culture media for rapid induction of *Fonsecaea pedrosoi* sclerotic cells *in vitro*. **J Clin Microbiol.**, n. 46, v. 11, 2008. p. 3839–3841.
- SILVA, SRS et al. Efeito do estresse hídrico sobre característica de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Acta Scientiarum. Maringá**, n. 5, v. 24, 2002. p. 1363-1368,
- SILVÁN, JM et al. Antibacterial activity of a grape seed extract and its fractions against *Campylobacter spp.* **Food Control**, v. 29, 2013, p. 25–31.
- SILVERSTEIN, RM; BASSLER, GC; MORRILL, TC. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** LTC: São Paulo, 2006.
- SINGH, MK; VARUN, VK; BEHERA, BK. **Cosmetotextiles: State of Art.** Fibres & Textiles in Eastern Europe, n. 19, v. 4, 2011. p. 27-33.
- SKELLY, JP et al. FDA and AAPS Report of the workshop on principles and practices of *in vitro* percutaneous penetration studies: relevance to bioavailability and bioequivalence. **Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 3, 1987, p. 265-267.
- SKOVGAARD, GR; JENSEN, AS; SIGLER, ML. Effect of a novel dietary supplement on skin aging in post-menopausal women. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, 2006, p. 1201–1206.

- SLAVIN, JW. **Considerations in alpha hydroxy acid peels.** Clin Plastic Surg, n. 25, v. 4, 1998.
- SOFRONIEW, MV; VINTERS, HV. Astrocytes: biology and pathology. **Acta Neuropathol.**, v. 118, n. 1, 2010, p. 7-35
- SOLAGRAN LTD. **Agent for female hygiene containing labdanic alcohols obtained by processing wood greens of coniferous species.** RU2149640C1, 27 mai. 2000.
- SOUTHWELL, IA et al. The search for optimally bioactive Australian tea tree oil. **Acta Horti**, n. 334, 1993. p. 265–275.
- SPENCER, TS. Dry skin and skin moisturizers. **Clinics in Dermatology**, n. 3, v. 6, 1988. p. 24-28.
- SRIVASTAVA, JK; GUPTA, S. Antiproliferative and apoptotic effects of chamomile extract in various human cancer cells. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.55, 2007, p. 9470–9478.
- STEWART, JR; CHRISTMAN, KL; O'BRIAN, CA. Effects of resveratrol on the autophosphorylation of phorbol ester-responsive protein kinases: Inhibition of protein kinase D but not protein kinase C isozyme autophosphorylation. **Biochemical Pharmacology**, v. 60, n. 9, 2000, p. 1355-1359.
- STEWART-TULL, DES. Evidence that vaginal lactobacilli do not ferment glycogen. **J. Obstet. Gynaecol**, n. 88, 1964. p. 676–679.
- SUBBARAMAIAH, K et al. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 34, 1998, p. 21875-21882.
- SUN, AY et al. Ethanol-induced cell death by lipid peroxidation in PC12 cells. **Neurochem. Res.** v. 22, 1997, p. 1187-1192.
- SUSAN KAY BROWNSKROBOT; MARY R. IRVING; MCNEILPPC, INC. **Additives to feminine hygiene products.** CA2054438 C, 17 jul. 2007.
- SVETLICHNY, G et al. Solid lipid nanoparticles containing copaiba oil and allantoin: development and role of nanoencapsulation on the antifungal activity. **Pharmazie**, n. 70, 2015. p. 155–164.
- SYED, TA et al. Treatment of toenail onychomycosis with 2% butenafine and 5% *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil in cream. **Trop Med Int Health**, n. 4, 1999. p. 284–287.

- SYMRISE AG. **Use of polyols for enhancing the cooling effect of a cooling substance and cooling mixtures having an enhanced cooling effect.** WO2010149798 A2, 29 dez. 2010.
- SZOKE, E et al. New terpenoids in cultivated and wild chamomile (*in vivo* and *in vitro*). **Journal of Chromatography**, v. 800, 2004, p. 231–238.
- TERRA, X et al. Modulatory effect of grape-seed procyanidins on local and systemic inflammation in diet-induced obesity rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, 2011, p. 380–387.
- THEIVENDRAN, S; HETTIARACHCHY, NS; JOHNSON, MG. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin combined with grape seed extract or green tea extract in soy protein film coated on turkey frankfurters. **Journal of Food Science**, v. 71, 2006, p. M39–M44.
- THOMSON, LG. **Sanitary Napkin.** US2940449, 14 jun. 1960.
- THORNBURN, P et al. Improving the performance of small incontinence pads: a study of wet comfort. **Journal of Wound, Ostomy and Continence Nurses Society**, n. 24, v. 4, 1997. p. 219-225.
- TONHL, E et al. Fases estacionárias para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Química Nova**, n. 25, v. 4., 2002. p. 616-623.
- TORRADO, S et al. Effect of dissolution profile and (-)-alpha-bisabolol on the gastrotoxicity of acetylsalicylic acid. **Pharmazie**, v.50, 1995. p.141-3, 1995.
- UCHINO, R et al. NFκBdependent regulation of urokinase plasminogen activator by proanthocyanidin-rich grape seed extract: Effect on invasion by prostate cancer cells. **Blood Coagulation & Fibrinolysis**, v. 21, 2010, p. 528–533.
- UENOBE, F; NAKAMURA, S; MIYAZAWA, M. Antimutagenic effect of resveratrol against Trp-P-1. **Mutation Res.** v. 373, 1997, p. 197-200.
- UNER, M. Preparation, characterization and physico-chemical properties of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): their benefits as colloidal drug carrier systems. **Pharmazie**, n. 61, 2006. p. 375–86.
- UNITIKA LTD. **Cloth with aroma for diaper, clothing, etc. - by supporting porous ceramic contg. aroma with cellulose and fixing onto cloth with cellulose.** JP5163676-A, 29 jun. 1993A.

- UNITIKA LTD. **Deodorant cloth for clothes, diapers, sanitary pads, etc. - composed of fine ceramic contg. a deodorant agent supported on fine cellulose powder and fixed with a thermoplastic polymer.** JP5163681-A, 29 jun. 1993B.
- UNIV NORTHWEST A & F. **Nanoemulsion composition useful for treating e.g. eczema, herpes, dermatitis or urinary infection, comprises surfactant, auxiliary surfactant, bergamot oil, patchouli oil, tea tree oil, peppermint oil and distilled water.** CN102397405-A, 4 abr. 2012.
- VAID, M; SINGH, T; KATIYAR, SK. Grape seed proanthocyanidins inhibit melanoma cell invasiveness by reduction of PGE2 synthesis and reversal of epithelial-to-mesenchymal transition. **PloS One**, v. 6, 2011.
- VALENTA, C. The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n. 57, 2005. p. 1692–1712.
- VAN SCOTT, E; YU, RJ. Apha hydroxy acids. Procedures for use in clinical practice. **Cutis**, n. 43, 1989. p. 222-228.
- VANDENBERGHE, LPS et al. Microbial Production of Citric Acid. **Braz. arch. biol. technol.**, n. 3, v. 42, 1999.
- VARLEY, SI; BARNETT, SE; SCALES, JT. Wound Release. In: **Conference on Medical Applications and Textiles**. University of Leeds, Lecture 19, 1981.
- VAZQUEZ, JA. In vitro susceptibilities of Candida and Aspergillus species to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Rev. Iberoam. Micol.**, n. 17, 2000. p. 60–63.
- VELLEJA RES SRL. **Topical compositions for the prevention and treatment of inflammatory and/or infective conditions of the genital area.** EP2014295 A2, 14 jan. 2009B.
- VELLEJA RES SRL. **Vaginal composition for preventing inflammatory conditions of genital area comprises *Zanthoxylum bungeanum* extract, 18-beta glycyrrhetic acid, *Matricaria chamomilla* and *Melaleuca alternifolia* essential oils, and *Curcuma longa*.** EP2014295-A2, 14 jan. 2009A.
- VIEIRA, MC; TEIXEIRA, AA; SILVA, CLM. Mathematical modelling of the thermal degradation kinetics of total vitamin C in Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. **Journal of Food Engineering**, n. 43, v. 1, 2000. p. 1-7
- VILLEGAS et al., (+)-epi-Alpha-bisabolol is the wound-healing principle of Peperomia galioides: investigation of the in vivo wound-healing activity of related terpenoids. **Journal of Natural Products**, n. 64, 2001. p. 1357-1359.

- VOLKMANN. **Vaginal care composition for ovule, cream, tampon or panty liner for care of mucous membranes and prophylaxis, contains viable Lactobacillus/Bifidobacterium bacteria, nonviable Saccharomyces culture, saccharide, vitamin A and zinc.** EP1506781-A1, 16 fev. 2005.
- WANG, CX; CHEN, SL. Aromachology and its application in the textiles field. **Fibres Textiles East Eur**, v. 13, n. 6, 2005. p. 41-44.
- WANG, J et al. Inhibition of tau aggregation by grape derived polyphenols in a mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 22, 2010B, p. 653–661.
- WANG, L. Market Share Sanitary Napkins. In: OSADA, K; KAJIWARA, Y (Org.) **Gels Handbook**. San Diego: Academy Press, 2001.
- WANG, S et al. Application of nanotechnology in improving bioavailability and bioactivity of diet-derived phytochemicals. **Journal of Nutritional Biochemistry**, n. 25, 2014. p. 363–376.
- WANG, YH et al. Effects of proanthocyanidins from grape seed on treatment of recurrent ulcerative colitis in rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 88, 2010A, p. 888–898.
- WESELER, A et al. Antifungal effect of Australian tea tree oil on *Malassezia pachydermatis* isolated from canines suffering from cutaneous skin disease. **Schweizer Archiv fur Tierheilkunde**, v. 144, 2002. p. 215-221.
- WITKIN, SS; LINHARES, IM; GIRALDO, P. Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 21, n. 3, 2007. p. 347-354.
- WU, L; ZHANG, J; WATANABE, W. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, n. 63, 2011. p. 456–469.
- YAMAKOSHI, J et al. Oral intake of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds improves chloasma. **Phytotherapy Research**, v. 18, 2004, p. 895–899.
- YAMAUCHI. **Sanitary napkin with porous resin powder deodorant.** US3856014. 24 dez. 1974.
- YANG, H et al. New bioactive polyphenols from *Theobroma grandilorum* (“Capuacu”). **J Nat Prod.**, n. 6, 2003. p. 1501–1504.
- YANG, JM; LIN, HT. Properties of chitosan containing PP-g-AA-g-NIPAAm bigraft nonwoven fabric for wound dressing. **Journal of Membrane Science**, n. 243, 2004. p. 1–7.

- YANG, XM; ZOU, AH. Preparation and characterization of 4-dedimethylaminosancycline (CMT-3) loaded nanostructured lipid carrier (CMT-3/NLC) formula-tions, **Int. J. Pharm.**, n. 450, 2013.
- YEN, CY et al. Concentration effects of grape seed extracts in anti-oral cancer cells involving differential apoptosis, oxidative stress, and DNA damage. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, 2015, p. 94.
- YI CHIA BAO BIOCHEMICAL TECHNOLOGY CO. **Additive for sanitary napkin, acting as a bacteriostatic, analgesic, deodorizing, antipruritic, and soothing agent comprises e.g., tea tree extract, anise extract and borneol.** TW200418533-A. 01 out. 2004.
- ZBIKOWSKA, HM et al. Response of blood platalets to resveratrol. **Platelets (Abingdon)**, v. 10, n. 4, 1999, p. 247-252.
- ZHANG, SY; ROBERTSON, D. A study of tea tree oil ototoxicity. **Audiology Neuro-Otology**, n. 5. v. 2, 2000. p. 64–68.
- ZHU, F; DU, B; LI, J. Recent advance on the antitumor and antioxidant activity of grape seed extracts. **International Journal of Wine Research**, v. 7, 2015A, p. 63–67.
- ZUR MÜHLEN, A; SCHWARZ, C; MEHNERT; W. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – Drug release and release mechanism. **Eur J Pharm Biopharm.**, n. 45, 1998. p. 149–55.
- 周世兰. **Lactic acid, glycerin formulation for female vagina acidity, humidity improvement.** CN 1557288 A. 29 dez. 2004.
- 河南舒莱卫生用品有限公司. **Sanitary towel capable of removing peculiar smell and manufacturing method thereof.** CN102961778 A. 13 mar. 2013.

APÊNDICE A – CONFIGURAÇÃO DAS EMBALAGENS DE SABONETE, PROTETOR DIÁRIO E LENÇO UMEDECIDO CONTENDO A DISPERSÃO AQUOSA DE CLN PHEETOCARE²²

Desde os anos 1960, discute-se a existência de elementos essenciais determinando a relação entre indivíduos de sexos diferentes. No que tange produtos de higiene pessoal, percebe-se o investimento na promoção de soluções diferentes para homens e mulheres (SILVA, 2010). Nesse processo, a embalagem é considerada de extrema importância, pois além dos aspectos práticos e ergonômicos, deve "comunicar de forma eficiente aquilo que se pretende transmitir aos consumidores para conquistar sua simpatia e adesão" (MESTRINER, 2002. p. 3). Para alcançar os objetivos almejados, o design mostra-se como uma ferramenta relevante, pois auxilia na definição das formas, cores e texturas e articula valores simbólicos atrelados aos significados que formam as culturas (ONO, 2006).

Silva (2010) realizou um estudo no qual compara embalagens de desodorante direcionadas para o público feminino e para o público masculino. A autora constata que o discurso utilizado por diferentes marcas reproduz a ideia de que as atitudes femininas estão circunscritas a manutenção de sua boa aparência. Sendo assim, no que tange os aspectos gráficos, são recorrentes as cores mais claras, muitas vezes com utilização de cores pastéis em *dégradé* sobre fundo branco. Os elementos decorativos remetem a flores e vegetais e a tipografia é sutil. Quanto à configuração glífica, são empregadas curvas suaves e linhas com boa continuidade.

Como o foco da presente pesquisa também é a produção de artigos para higiene íntima feminina, as informações apresentadas por Silva (2010) foram utilizadas na conceituação das embalagens. Assim, foram desenvolvidas embalagens para o sabonete, para os protetores diários e para os lenços umedecidos. Não obstante, também foi criado um selo com a informação "Nanopartículas Pheetocare" que indica a presença da dispersão aquosa de CLN na composição dos produtos.

²² As imagens contidas neste item estão em processo de registro de desenho industrial (protocolos INPI: BR 30 2016 005349 9 e BR 30 2016 005351 0).

Para o selo (Figura 35), a intenção era utilizar o formato esférico/circular dos carreadores lipídicos. Como os componentes ativos da formulação proposta são provenientes de plantas, optou-se por incrementar o formato arredondado com grafismos estilizados de formas orgânicas a fim de remeter à natureza. Também para este fim, a cor empregada foi um tom esverdeado (CMYK: 90, 0, 54, 0; PANTONE®: P 130-7U) que "está simbolicamente ligado a campos e árvores [e] lembram a tranquilidade, natureza, saúde" (ALVARENGA; SIMÕES, 2009). Já para a tipografia, utilizada para escrever "COM NANOPARTÍCULAS PHEETOCARE", foram selecionadas as fontes Gadugi® e Castle T®. Ambas as fontes são regulares e sem serifa, as quais são indicadas para títulos, pois chama atenção para cada palavra (PRINTI, 2016).

Figura 35 – Selo para indicar a presença da dispersão aquosa de CLN Pheetocare.



As quatro versões apresentadas sugerem o uso do selo na sua configuração normal (a); ainda colorido, porém em negativo (b); a versão preto e branco normal (c); e a versão preto e branco negativa (d).

As embalagens do sabonete (Figura 36), dos protetores diários (Figura 37) e dos lenços umedecidos (Figura 38) foram configuradas de forma a manter uma coerência entre os três produtos. Como diagnosticado por Silva (2010), os produtos

de higiene feminina apresentam formas suaves e florais. Assim, a silhueta feminina foi estilizada e utilizada como elemento gráfico principal e o fundo foi preenchido com uma textura floral. As cores aplicadas são o magenta (CMYK: 0, 100, 0, 0; PANTONE®: Process Magenta C) e o lilás (CMYK: 14, 63, 0, 0; PANTONE®: 2067 CP).

De acordo com Alvarenga; Simões (2009), tons de rosa estão associados com o feminino devido à flor de mesmo nome e o lilás por dar ideia de frescor e equilíbrio, já que é o resultado da mistura entre uma cor quente (vermelho) e uma cor fria (azul). Na silhueta, foi aplicado um preenchimento gradiente que vai do lilás ao mesmo tom esverdeado utilizado no selo para que todos os elementos da embalagem representem uma unidade visual. O produto está enunciado pela Baskerville Win95BT®. Esta é uma fonte serifada que, apesar de não ser designada para este fim, foi escolhida por suas características estéticas.

Figura 36 – Configuração da embalagem do sabonete para uso íntimo.



Na parte anterior (a), uma imagem estilizada faz referência ao corpo feminino; na parte posterior (b), inclui o selo indicando a incorporação das nanopartículas Pheetocare, bem como os ingredientes ativos da formulação. Fonte: do autor.

Figura 37 – Configuração da embalagem dos protetores diários.



Fonte: do autor.

Figura 38 – Configuração da embalagem dos lenços umedecidos.



Fonte: do autor.

APÊNDICE B – PUBLICAÇÕES REFERENTES À PRESENTE TESE DE DOUTORADO

- POHLMANN, M; PAESE, K; GUTERRES, SS. Production, characterization and impregnation of nanostructured lipid carriers of cupuaçu butter (*T. grandiflorum*), alpha -bisabolol, tea tree oil (*M. alternifolia*) and citric acid in nonwoven fabric. **International Journal of Engineering and Technical Research**, n. 2, v. 6, 2016, p. 12-18.
- POHLMANN, M. Design and Materials Selection: analysis of similar sanitary pads for daily use. **International Journal of Engineering Research and Application**, 2016, n. 11, v. 6, p.74-79.
- POHLMANN, M; PAESE, K. **Padrão ornamental aplicado em superfície**. Pedido de registro de desenho industrial. Número INPI: BR 30 2016 005349 9.
- POHLMANN, M; PAESE, K. **Padrão ornamental aplicado em superfície**. Pedido de registro de desenho industrial. Número INPI: BR 30 2016 005351 0.
- POHLMANN, M; PAESE, K; FRANK, LA; GUTERRES, SS. Production, characterization and application of nanotechnology-based Vegetable Multicomponent Theospheres in nonwoven: a women's intimate hygiene approach. **Textile Research Journal**²³.
- POHLMANN, M; PAESE, K; FRANK, LA; GUTERRES, SS. **Produção de nanopartículas contendo multicomponentes vegetais baseadas em Theospheres para aplicação em sabonete líquido e em cobertura de absorventes visando ao uso íntimo feminino**. Pedido de depósito de patente. Protocolo UFRGS: 23078.001878/2017-11²⁴.

²³ Artigo submetido para avaliação em 06/02/2017.

²⁴ Processo aberto em 07/02/2017.