

Segurança de uma formulação contendo micropartículas de quitosana com camomila: ensaio clínico, mascarado e controlado*

Danielle Cristina Garbuio¹
Cristina Mara Zamarioli²
Maísa Oliveira de Melo³
Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos³
Emília Campos de Carvalho²
Luis Alexandre Pedro de Freitas³

Objetivo: avaliar a segurança de uma formulação tópica, contendo micropartículas de camomila revestidas com quitosana, na pele de participantes saudáveis. Método: ensaio clínico fase I, mascarado, controlado, não aleatorizado, de dose única, com controles da pele, da base da formulação e da formulação com micropartículas. As variáveis analisadas foram irritação e hidratação por meio dos testes de Wilcoxon e Kruskal-Wallis. Resultados: iniciaram o estudo 35 participantes com idade média de 26,3 anos. Destes, 30 (85,71%) eram do sexo feminino, 29 (82,90%) brancos e 32 (91,40%) sem patologias prévias. Um participante foi descontinuado por referir eritema no local de aplicação e quatro por não comparecerem à última avaliação. Nos 30 participantes que finalizaram o estudo, a formulação teste não causou eritema, descamação, ardor, prurido ou dor; houve melhora na hidratação cutânea no local de aplicação da formulação com as micropartículas. Na avaliação da função barreira houve aumento da perda transepidermica de água em todos os locais. Conclusão: a formulação com micropartículas de camomila é segura para o uso tópico, não provocando irritação e melhorando a hidratação cutânea ao longo de quatro semanas de uso. Seus efeitos na função barreira devem ser melhor estudados. N^o RBR-3h78kz no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC).

Descritores: Matricaria; Fármacos Dermatológicos; Prevenção e Controle; Enfermagem; Ensaio Clínico; Plantas Medicinais.

* Artigo extraído da tese de doutorado "Prevenção de lesões de pele: Desenvolvimento de formulação tópica de micropartículas de quitosana com Chamomilla recutita (L.) rauschert e estudos preliminares de seu uso", apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Centro Colaborador da OPAS/OMS para o Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem, Ribeirão Preto, SP, Brasil. Apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil.

¹ Universidade Anhanguera, Valinhos, SP, Brasil.

² Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Centro Colaborador da OPAS/OMS para o Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

³ Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Como citar este artigo

Garbuio DC, Zamarioli CM, Melo MO, Campos PMBGM, Carvalho EC, Freitas LAP. Safety of a formulation containing chitosan microparticles with chamomile: blind controlled clinical trial. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 2018;26:e3075. [Access _____]; Available in: _____. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1518-8345.2648.3075>.

mês dia ano

URL

Introdução

A pele, fronteira do corpo humano com o meio externo, carrega parte de nossa identidade, apresenta informações da nossa idade, da genética, do estado de saúde, de estilos de vida e até mesmo do nosso estado emocional⁽¹⁾. Possui distintas funções, dentre elas a função barreira, a termorregulação, a síntese de vitamina D e também a proteção do corpo contra danos⁽²⁻³⁾.

Atualmente, há um crescente interesse em produtos para a pele e suas propriedades protetoras e cicatrizantes, destacando-se os que apresentam em sua composição extratos botânicos⁽⁴⁾. Dentre esses extratos botânicos, o de *Chamomilla recutita* (L.) rauschert (camomila), planta conhecida popularmente⁽⁵⁾, que tem seu uso como fitoterápico liberado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)⁽⁶⁾, possui em sua composição flavonoides, sendo a apigenina e a apigenina-7-glicosídeo os mais abundantes⁽⁷⁾. Essas substâncias demonstraram, em diferentes estudos, potenciais antimicrobianos⁽⁸⁾, analgésicos⁽⁹⁾, anti-inflamatórios^(6,8,10-11), cicatrizantes⁽¹²⁻¹³⁾, antitumorais⁽¹⁴⁻¹⁵⁾ e imunomoduladores⁽¹⁶⁾. Ademais, a mistura de antioxidantes presentes no extrato da camomila é eficaz para diminuir os radicais livres e apresenta potenciais benefícios na utilização em formulações para a pele por meio da redução das perdas de água, da melhora na hidratação e no auxílio à manutenção da função de barreira⁽⁴⁾.

Os riscos associados ao uso dessa planta são pequenos e estão relacionados com a redução da agregação plaquetária⁽¹⁷⁾ e reações anafiláticas a pessoas sensíveis aos seus componentes⁽¹⁸⁾. Entretanto, um recente estudo, que avaliou reações alérgicas a compostos herbais nos últimos 27 anos, não encontrou nenhum relato com *Chamomilla recutita* (L.) rauschert⁽¹⁹⁾.

Apesar de suas potencialidades, a apigenina e a apigenina-7-glicosídeo têm baixa estabilidade^(15,20-22) e uma alternativa para melhorar essa questão é a utilização de sistemas de liberação controlada. O setor farmacêutico, em consonância com a evolução tecnológica, vem melhorando os processos de obtenção de insumos e investindo na forma de produção e de aplicação dos distintos produtos obtidos. Para esse fim, a microencapsulação é uma tecnologia muito usada, que visa à otimização dos processos industriais, bem como ao aumento da biodisponibilidade e da estabilidade das formulações. Esse processo pode ser realizado por diferentes métodos, utilizando diversos revestimentos. Neste estudo, o revestimento selecionado foi a quitosana e o método de obtenção o *spray drying*⁽²¹⁾.

A quitosana é um polissacarídeo hidrofílico, biocompatível, biodegradável, de baixa toxicidade, com propriedades mucoadesivas e de formação de filme⁽²³⁾. Estudos apontam o seu potencial na utilização para tratamento de lesões de pele com resultados positivos na cicatrização e na resposta inflamatória⁽²⁴⁻²⁸⁾. Além disso, esse polímero foi utilizado, em estudo, como revestimento de micropartículas contendo fatores de crescimento endotelial e epidérmico, com resultados positivos na melhora do processo de cicatrização⁽²⁹⁾; e, também, como revestimento de micropartículas capazes de capturar e expandir células específicas com a finalidade de acelerar os processos anti-inflamatórios e de cicatrização⁽³⁰⁾.

A despeito de todas as potencialidades das micropartículas revestidas com quitosana e das propriedades terapêuticas da camomila, não se identificou na literatura estudos com esses compostos. Ademais, essas micropartículas estão incorporadas em formulação à base de lanolina, uma substância de uso seguro para aplicações tópicas, incorporando diversos agentes bioativos⁽³¹⁾.

Diante do exposto, foi proposto um estudo com o objetivo de avaliar a segurança dessa formulação tópica, contendo micropartículas de *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert revestidas com quitosana, para aplicação na pele de voluntários saudáveis, por meio das seguintes variáveis: eritema, variações na quantidade de melanina, descamação, ardor, prurido, dor e alterações na hidratação cutânea. A hipótese aventada foi que a utilização dessa formulação seria segura para aplicação cutânea ao longo de quatro semanas de uso.

Método

Ensaio clínico fase I, mascarado, controlado e sem aleatorização, de dose única, no qual uma dose baixa, mas com atividade biológica do princípio ativo, foi administrada⁽³²⁾.

Para o desenvolvimento das micropartículas utilizadas neste estudo foram aplicadas as metodologias de extração⁽³³⁾ e microencapsulação desenvolvidas e validadas em estudo prévio⁽²¹⁾. Ainda, em outro estudo desenvolvido pela pesquisadora principal, foram realizados os testes de qualidade da planta adquirida, seguindo as orientações da Farmacopeia Brasileira⁽³⁴⁾, bem como testes preliminares de permeação da formulação em modelo *ex vivo* e de estabilidade.

As formulações foram preparadas no Laboratório de Desenvolvimento Industrial Farmacêutico na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (LADIFARP/FCFRP/USP). A Formulação com Camomila (F1) possuía 99,8% de Lanolina e 0,2% de micropartículas e a Formulação sem

Camomila (F2) possuía 100% de Lanolina. A dose de camomila nas micropartículas e, conseqüentemente, na formulação, foi selecionada a partir das diretrizes estabelecidas pela ANVISA⁽⁶⁾ para a quantidade de apigenina-7-glicosídeo.

Os critérios de inclusão dos participantes foram: idade (18 anos ou mais); pele saudável nas regiões de aplicação do produto (antebraços); ausência de história de hipersensibilidade a peixes, frutos do mar ou a algum componente da formulação (camomila, quitosana ou lanolina); não estar fazendo uso de heparina, anticoagulantes orais e antiagregadores plaquetários. Os critérios de exclusão foram: lesão nos locais de aplicação e vontade expressa de interromper a participação ou a não aplicação do produto por mais de quatro dias consecutivos.

Para o tamanho amostral foram consideradas as recomendações nacionais⁽³⁵⁾ e internacionais⁽³²⁾ sobre estudos que visam às avaliações iniciais sobre tolerância e segurança em humanos saudáveis, sendo recomendável a participação de 20 a 100 indivíduos.

O estudo foi realizado em parceria com o Núcleo de Estudos Avançados em Tecnologia de Cosméticos, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo (NEATEC/FCFRP/USP), cujo laboratório está equipado para as análises cutâneas realizadas. Os participantes foram recrutados por meio de convite realizado pessoalmente pela pesquisadora principal nas dependências da universidade durante o período de agosto a setembro de 2015.

Os quatro locais de avaliação de cada participante foram: dois controles da pele sem a aplicação de qualquer produto, sendo um em cada antebraço (C1 e C2), um controle da formulação (F2) e um experimental (F1). Portanto, cada participante apresentava quatro locais de avaliação, sendo dois com formulações e dois sem formulações (Figura 1).

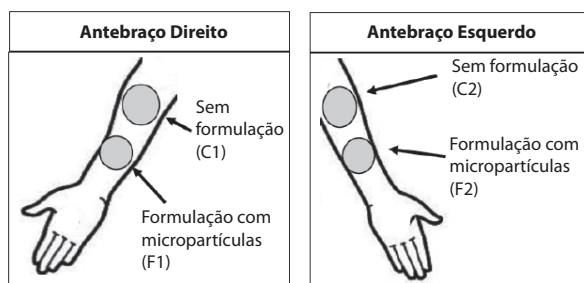


Figura 1. Esquema dos locais de aplicação do produto e controles e de avaliação da pele

Para a aplicação das formulações, os procedimentos foram padronizados da seguinte maneira: o local da aplicação deveria estar livre de qualquer tipo de mancha, lesões, irritações ou escoriações, conforme estabelecido nos critérios de inclusão; a quantidade de formulação foi

pré-determinada na ponta de uma espátula e aplicada, separadamente, a formulação 1 (F1) na face anterior do antebraço direito e a formulação (F2) na face anterior do antebraço esquerdo; na porção proximal de ambos não foi aplicado nenhum produto para permitir a avaliação das condições da pele (controle negativo direito – C1; controle negativo esquerdo – C2). A posologia de aplicação foi de uma vez ao dia, sempre no mesmo horário, e os participantes foram orientados a não utilizar nenhum outro produto nos locais da aplicação e avaliação ao longo dos 28 dias de estudo.

Antes de cada avaliação, todos os participantes permaneceram em sala climatizada a 24° C ($\pm 2^\circ$ C), com umidade relativa do ar (UR) em torno de 50% ($\pm 4\%$), por 15 minutos. A área da pele avaliada foi demarcada com uma régua, o que serviu de guia para que todas as avaliações fossem realizadas nos mesmos locais. No primeiro dia de tratamento (D0) foi realizada a avaliação inicial da pele e os participantes foram instruídos sobre os procedimentos para aplicação das formulações e a padronização dos locais. A cada um foram dispensados dois potes contendo as informações de validade e aplicação, um para o antebraço esquerdo e outro para o antebraço direito. Todos os participantes utilizaram ambas as formulações.

Após 24 horas (D1) da primeira aplicação, os participantes foram avaliados quanto à tolerância e ao aparecimento de reações adversas. Se não houvesse queixas ou sinais de irritação, o tratamento prosseguia até o D28, quando as avaliações eram novamente realizadas.

Os desfechos analisados foram irritação e hidratação da pele, avaliados por meio de instrumentos de medida quantitativa, avaliação clínica e avaliação subjetiva. Para avaliação da irritação foram realizadas determinações quantitativas de eritema e melanina com o Mexameter® MX18 (Courage and Khazaka Electronics Ltd, Koeln, Germany) e a mensuração do pH da pele local com o Skin-pH-Meter pH 900® (Courage and Khazaka Electronics Ltd, Koeln, Germany); a avaliação clínica visual da descamação macroscópica e a avaliação subjetiva foram realizadas por meio de inquérito ao participante sobre a sensação de calor, ardor, prurido e dor. A hidratação da pele foi avaliada: pelo teor de água retido no estrato córneo, com o equipamento Corneometer® CM 825 (Courage & Khazaka, Koeln, Germany), e pela perda de água transepidérmica, com o Tewameter® TM 210 (Courage and Khazaka Electronics Ltd, Koeln, Germany); pelos parâmetros clínicos de opacidade e aspereza; e avaliação subjetiva do participante quanto à sensação de hidratação.

As aferições quantitativas foram realizadas por uma farmacêutica com experiência nessas análises. A avaliação

clínica foi feita por um enfermeiro e a avaliação subjetiva pelo próprio participante. Todos os resultados foram anotados em um instrumento de coleta de dados, previamente submetido a três juízes para a avaliação de conteúdo e de aparência.

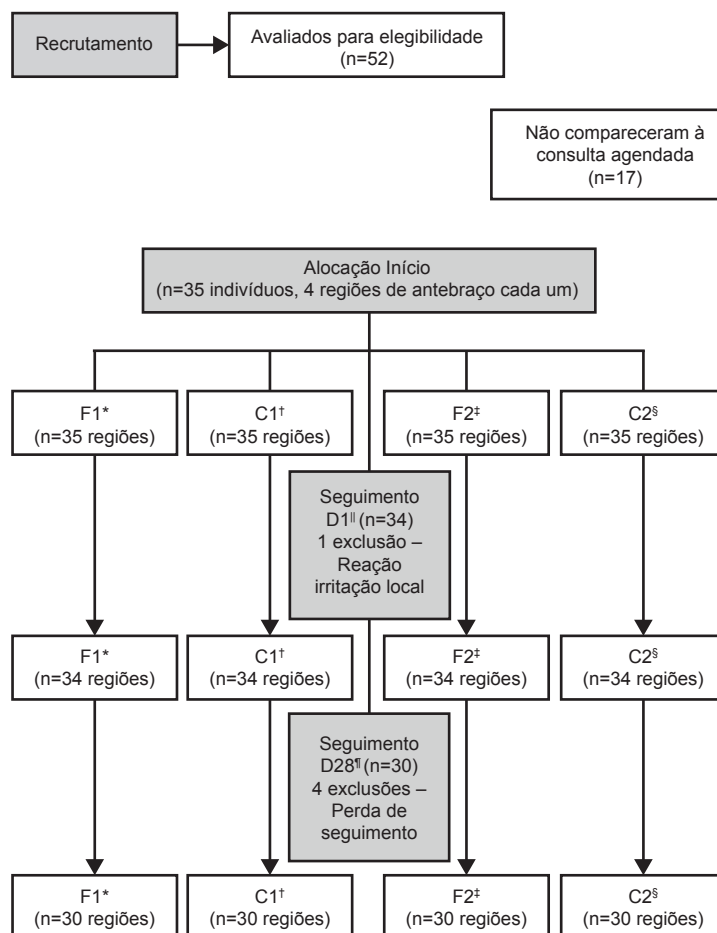
O enfermeiro e o farmacêutico que realizaram as avaliações, bem como os participantes, não sabiam qual formulação continha as micropartículas de quitosana com camomila. Ainda, dado ao odor característico e à consistência da Lanolina®, a formulação controle (F2) apresentava o mesmo aspecto que aquela em teste (F1).

Foi feita análise descritiva de cada variável e verificada a distribuição destas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov; somente após este procedimento foi escolhido o teste estatístico pertinente. As análises foram realizadas com o programa SAS® e adotados níveis de significância (α) de 5% e poder de 80%. Para avaliar o antes e o depois em cada local de aplicação, o teste de escolha foi o Wilcoxon. Para comparar os locais de aplicação das formulações (F1 e F2) e os controles (C1 e C2) em cada tempo, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto (EERP/USP), com o número 1.177.590/2015.

Resultados

Foram avaliados por sua elegibilidade e recrutados pela pesquisadora principal 52 participantes. Destes, 17 não compareceram ao agendamento, sendo assim alocados 35 participantes no estudo. O estudo foi finalizado após quatro semanas, conforme cronograma inicial de execução. Após o início, um participante teve o tratamento suspenso por apresentar irritação local, relatando pequenos pontos vermelhos no antebraço direito, três horas após ter aplicado a formulação (F1), com regressão espontânea cerca de 30 minutos depois. No momento da avaliação no D1, o local apresentava-se sem alterações e o participante não relatou outras queixas. Por segurança, esse participante foi orientado a não utilizar mais as formulações e foi descontinuado do estudo. Outros quatro não compareceram à avaliação final (D28), não concluindo o esquema proposto. No entanto, foi mantido contato com esses participantes até 21 dias após a aplicação, quando foi confirmada a data da avaliação final. Destacamos que até essa data nenhum desses quatro participantes havia manifestado qualquer reação adversa ao tratamento; o fluxo de participante está representado na Figura 2.



*F1: Formulação com micropartículas; †C1: Sem formulação; ‡F2: Formulação sem micropartículas; §C2: Sem formulação; ¶D1: Primeiro dia; ¶D28: Último dia

Figura 2. Fluxograma dos participantes no estudo segundo as recomendações do CONSORT

A idade média dos participantes foi de 26,30 anos (Desvio-padrão 7,80; mínimo 19; máximo 59) e Índice de Massa Corporal (IMC) médio de 23,20 (Desvio-padrão 4,42; mínimo 16,1; máximo 32,1). Outras variáveis analisadas na caracterização inicial dos participantes estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica e clínica dos participantes no início da pesquisa (n=35). Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2015

Variáveis	n (%)
Sexo	
Feminino	30 (85,7)
Masculino	5 (14,3)
Raça	
Branca	29 (82,9)
Negra	1 (2,9)
Parda	3 (8,6)
Asiática	2 (5,7)
Antecedentes Pessoais	
Nenhum	32 (91,4)
DM*	1 (2,9)
Outro	2 (5,7)
Etilismo	
Não	5 (14,3)
Sim	0 (0,0)
Ex-etilista	1 (2,9)
Esporádico	29 (82,9)
Tabagismo	
Não	32 (91,4)
Sim	0 (0,0)
Ex-tabagista	3 (8,6)
Esporádico	0 (0,0)

*DM: Diabetes Mellitus

Primeiramente, foi realizada uma avaliação buscando identificar possíveis diferenças quanto ao eritema, melanina, pH, hidratação e perda transepidermica de água entre os quatro locais avaliados no início (D0) e ao final do tratamento (D28). Esses dados estão apresentados na Tabela 2.

Outra avaliação foi realizada comparando cada local antes (D0) e após o tratamento (D28) com o objetivo de identificar se o uso da formulação alterou de modo significativo os parâmetros mencionados. Assim, na avaliação clínica dos parâmetros de descamação e edema, não foi observada nenhuma alteração após o primeiro dia de aplicação ou ao final das quatro semanas. Não houve diferença entre a média inicial e final para as variáveis eritema e melanina em nenhum dos locais de aplicação, o que confirma o esperado. Essa mesma análise para as médias de pH apontou diferença entre os valores iniciais e finais no local de aplicação da formulação com as micropartículas (p=0,0492) e no local de avaliação do controle direito (p=0,0303) (Figura 3).

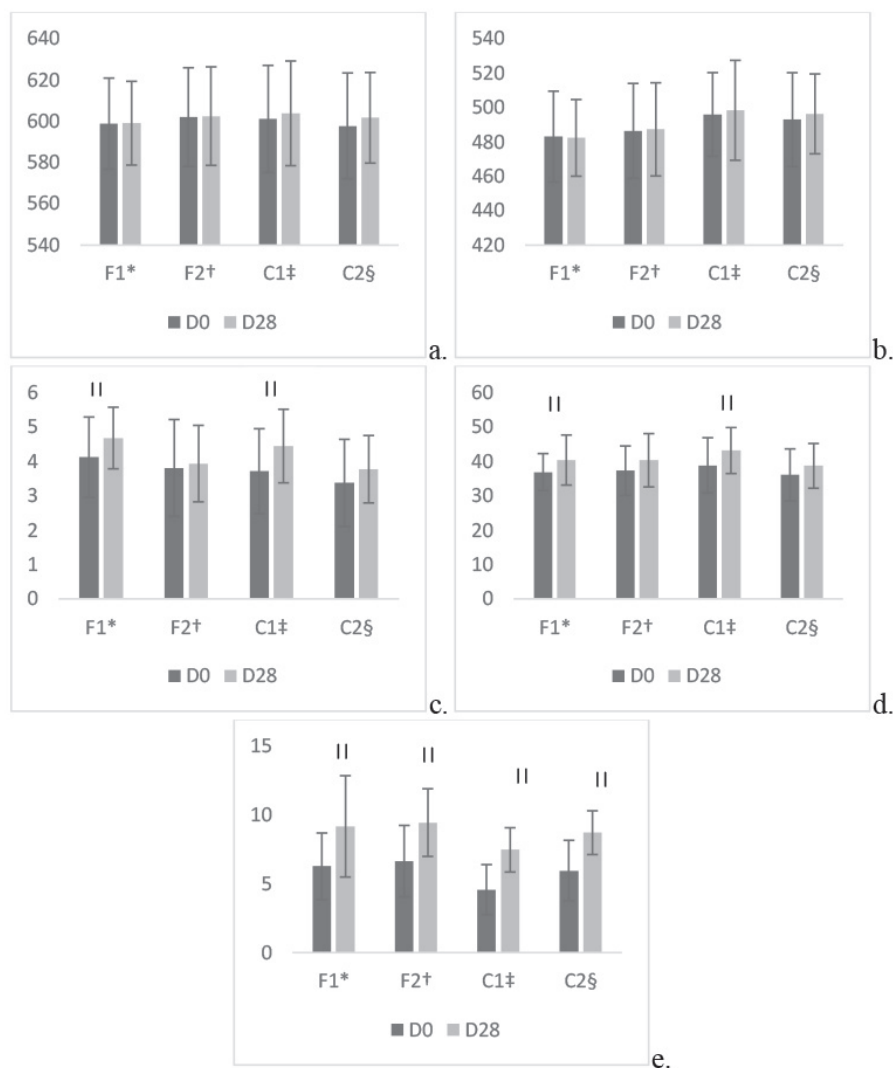
Tabela 2. Comparação das médias de eritema, melanina, pH, hidratação e perda transepidermica de água entre os locais avaliados no início (D0) e ao final do tratamento (D28) (n=30). Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2015

Variáveis	Início		Final	
	Média	p valor*	Média	p valor*
Eritema				
F1 [†]	598,9		599,1	
F2 [‡]	602,0	0,6464	602,5	0,8796
C1 [§]	601,1		603,8	
C2	597,8		601,7	
Melanina				
F1 [†]	483,1		482,4	
F2 [‡]	486,4	0,0037 ^{††}	487,3	0,0053 ^{††}
C1 [§]	496,0		498,4	
C2	492,9		496,3	
pH				
F1 [†]	4,1		4,6	
F2 [‡]	3,8	0,0819	3,9	0,0019 ^{††}
C1 [§]	3,7		4,4	
C2	3,3		3,7	
Teor de água				
F1 [†]	36,8		40,3	
F2 [‡]	37,3	0,4837	40,3	0,1348
C1 [§]	38,8		43,1	
C2	36,0		38,6	
TEWL**				
F1 [†]	6,2		9,1	
F2 [‡]	6,6	0,0006 ^{††}	9,4	0,0029 ^{††}
C1 [§]	4,5		7,4	
C2	5,9		8,7	

*Teste de Kruskal-Wallis; [†]F1: Formulação com micropartículas; [‡]F2: Formulação sem micropartículas; [§]C1: Sem formulação; ^{||}C2: Sem formulação; ^{††}Valor de p menor que 0,05; ^{**}TEWL: Perda transepidermica de água

Houve aumento na média do coeficiente de hidratação no local de aplicação da formulação com as micropartículas (F1) (p= 0,0483) e no controle direito (C1) (p=0,0413). Com relação à função barreira da pele, houve um aumento na média da perda transepidermica de água (TEWL) nos quatro locais avaliados (F1 – p=0,0003; F2 – p=0,0004; C1 – p<0,0001; C2 – p<0,0001), o que indica uma diminuição na função barreira (Figura 3).

A avaliação clínica da irritação não encontrou descamação em nenhum participante no período avaliado. Quanto aos parâmetros subjetivos de irritação (dor, ardor, prurido e calor), apenas um participante (3,3%), ao final das quatro semanas do estudo, relatou sensação de dor leve no local de aplicação da formulação com as micropartículas (F1), com rápido alívio após alguns minutos da aplicação.



*F1: Formulação com micropartículas; †F2: Formulação sem micropartículas; ‡C1: Sem formulação; §C2: Sem formulação. ||Representa os valores de p menores que 0,05 (Teste Wilcoxon)

Figura 3. Distribuição dos valores médios de eritema (a), melanina (b), pH (c), Hidratação (d) e TEWL (e) nos tempos inicial (D0) e final (D28) para cada local avaliado

Em relação à avaliação clínica da hidratação da pele (opacidade e aspereza), não se observou alteração no D0 ou no D28. Os dados referentes à avaliação do parâmetro subjetivo da hidratação apontam que, no local de aplicação da formulação com as micropartículas (F1), houve melhora na sensação de hidratação referida por 37,1% dos participantes no segundo dia e em todos os participantes no último dia. Já no antebraço esquerdo, formulação sem as micropartículas (F2), houve melhora na sensação de hidratação em 48,6% no segundo dia e em todos os participantes no último dia. O controle foi avaliado com melhor hidratação por 2,9% dos participantes no segundo dia e por 96,7% no último dia.

Discussão

Quanto à idade, os participantes deste estudo apresentaram média de 26,3 anos (Desvio-padrão 7,80; mínimo 19; máximo 59). A variabilidade na idade dos

participantes do estudo pode prever a atuação do produto em diferentes estágios de envelhecimento da pele. Essa variação na faixa etária dos participantes foi observada em outros estudos que avaliaram segurança e eficácia de novas formulações⁽³⁶⁻³⁸⁾.

Com relação ao sexo, 30 (85,7%) dos participantes foram do sexo feminino (Tabela 1). As características da pele, como a quantidade de eritema, melanina, elasticidade, espessura, perda transepidermica de água e Ph, variam nos diferentes sítios anatômicos entre homens e mulheres, como também nas diferentes faixas etárias⁽³⁹⁻⁴²⁾. Autores apontam sobre a importância de considerar as variações nas propriedades biofísicas da pele em diferentes idades, gêneros e localizações anatômicas, pois, uma vez que essas diferenças têm relação com a suscetibilidade individual para as doenças de pele, elas devem ser consideradas nos estudos e na elaboração de produtos para a pele⁽⁴¹⁾.

O mesmo ocorre com o IMC, visto que essa variável influencia na qualidade da pele e, desse modo, selecionar uma amostra com ampla variação é importante para compreender a atuação do produto de forma mais ampla. Neste estudo, o IMC também variou bastante, sendo a média 23,2 (Desvio-padrão 4,42; mínimo 16,1; máximo 32,1).

A quantificação do eritema possibilitou observar que a formulação em teste não produziu uma resposta inflamatória local, pois não houve diferença entre a média de eritema no D0 e D28 ($p=0,8650$). O primeiro evento após o início da resposta inflamatória é a vasodilatação com o aumento do fluxo sanguíneo local, seguido do aumento da permeabilidade vascular. Esses fenômenos são promovidos por mediadores químicos e se traduzem clinicamente no aparecimento do eritema⁽⁴³⁾.

A avaliação da melanina mostrou diferença entre as médias dos locais avaliados tanto no D0 ($p=0,0037$) como no D28 ($p=0,0053$). Esses achados demonstram que a quantidade de melanina não foi homogênea nos quatro locais avaliados no D0 e no D28. Os índices de melanina podem apresentar variações nas diferentes regiões do corpo⁽⁴¹⁾. Além das questões anatômicas, esse fato pode ser explicado pela diferença na exposição solar⁽⁴¹⁾, corroborando com o evidenciado nesta pesquisa. Fatores pessoais como idade, sexo, raça, local anatômico e propriedades de superfície cutânea, bem como fatores ambientais como condições de luz, temperatura, umidade e variações climáticas, podem influenciar a coloração da pele^(41,44).

A função da melanina é a proteção do DNA dos queratinócitos contra a radiação⁽⁴⁵⁾; sabe-se que sua concentração, seu tipo e sua localização representam importantes fatores na avaliação da coloração da pele, assim como na avaliação de fluxo sanguíneo, espessura, suavidade e degradação das proteínas da pele⁽⁴⁶⁾, o que representa importante medida na avaliação de suas possíveis alterações.

A avaliação da quantidade de melanina mostrou uma diminuição da média desses valores apenas no local de aplicação da formulação com as micropartículas (Figura 3), apesar da análise não apontar diferença estatística ($p=0,8592$). Esse fato pode indicar um possível efeito fotoprotetor da formulação com as micropartículas, uma vez que essa redução foi observada somente no local de aplicação dessa formulação (F1).

Um estudo, que avaliou os efeitos de uma emulsão contendo tamarindo na melanina, identificou uma redução na quantidade de melanina nos locais de aplicação e atribuiu esse resultado à presença de compostos fenólicos presentes no extrato⁽⁴⁷⁾. Sabe-se que a camomila contém diversos compostos fenólicos em sua composição, fato que sugere a realização de estudos futuros para melhor investigar essa propriedade.

Na avaliação do pH não houve diferença entre os locais no D0 ($p=0,0819$), no entanto, no D28, houve uma diferença significativa para esses valores ($p=0,0019$). Ainda, a média de pH da pele era semelhante nos quatro locais avaliados no D0, mas no D28 houve uma modificação entre os valores, sem, contudo, alterar os valores fisiológicos. Como essa alteração foi verificada também no controle do mesmo braço, pode-se inferir que esse aumento não está relacionado ao uso da formulação. Ademais, essa alteração não interferiu nos valores de normalidade do pH na pele.

O pH é também uma variável que apresenta alteração em seus índices nas diferentes regiões corporais⁽⁴²⁾. Neste estudo, acredita-se que a diferença seja resultado da aplicação da formulação com a camomila, causando um aumento no seu valor médio, a despeito de permanecer dentro dos limites fisiológicos.

Nas avaliações subjetivas de ardor, prurido e calor, bem como na avaliação clínica de descamação, não foram encontradas alterações significativas. Sabe-se que os três componentes utilizados estão liberados pelos órgãos regulamentadores, estudados em diversos tipos de pesquisas e utilizados para diversas finalidades, entre elas os tratamentos e cuidados com a pele.

O extrato da camomila foi avaliado quanto à toxicidade, apresentando segurança nas dosagens preconizadas para seres humanos, sem apresentar efeitos citotóxicos, genotóxicos ou mutagênicos⁽⁴⁸⁾. O uso da quitosana em nanocápsulas com alginato, para o tratamento de condições infecciosas ou inflamatórias da pele, apresentou atividade antibacteriana, anti-inflamatória e liberação controlada, sem causar irritação cutânea⁽⁴⁹⁾. Um estudo sobre a toxicidade da lanolina e seu efeito na cicatrização de animais concluiu que ela não apresenta efeito tóxico em monócitos, células importantes para a cicatrização⁽⁵⁰⁾.

Quanto ao participante descontinuado do estudo no D1 por relato de reação local, atribui-se o evento a uma possível sensibilidade pessoal desconhecida aos componentes da formulação, uma vez que se trata de um caso isolado e com regressão espontânea dos sinais. O participante que relatou sensação de dor referiu que esta apresentou grau leve, com curta duração, sendo aliviada espontaneamente.

A avaliação da função barreira da pele demonstrou um aumento significativo na média da perda transepidérmica de água nos quatro locais avaliados ($pF1=0,0003$, $pC1<0,0001$, $pF2=0,0004$ e $pC2<0,0001$), indicando uma diminuição desta (Figura 3). As variações na perda transepidérmica de água podem ser atribuídas ao fluxo sanguíneo, temperatura da pele, conteúdo lipídico do estrato córneo e grau de formação dos corneócitos⁽⁴¹⁻⁴²⁾. O aumento na perda transepidérmica

de água através do estrato córneo, no presente estudo, pode ser atribuído ao período do ano e ao clima seco da cidade na qual o estudo foi realizado. Estudos mantendo um tempo de avaliação mais prolongado poderão elucidar a possível influência desses aspectos.

Ao comparar os resultados dos quatro locais avaliados (Tabela 3), nota-se que não houve diferença para os valores médios da hidratação entre eles no D0 ($p=0,4837$) e no D28 ($p=0,1348$). Para os valores médios de perda transepidermica de água, observa-se uma diferença entre os grupos no D0 ($p=0,0006$) e no D28 ($p=0,0029$). Esse dado demonstra não homogeneidade na quantidade de perda transepidermica de água entre locais avaliados no início e no final do estudo.

A análise da hidratação ao final do estudo evidenciou um aumento da média desse coeficiente em todos os locais avaliados, mas somente o local de aplicação da formulação com as micropartículas (F1) ($p=0,0483$) e o controle direito (C1) ($p=0,0413$) apresentaram diferença significativa (Figura 3).

Atualmente, a prevenção de lesões de pele é realizada de acordo com o tipo de lesão. Produtos de diversas marcas estão disponíveis para aplicação na pele íntegra visando à formação de um filme protetor e, desse modo, a promoção de uma proteção contra os agressores físicos ou químicos. No entanto, esses produtos não apresentam micropartículas de quitosana com camomila, o que promove um aumento da estabilidade do extrato botânico encapsulado e também a liberação lenta e controlada de seus ativos, que pode ser um diferencial.

O estudo teve como possíveis limitações a não randomização dos locais de aplicação e a não mensuração da quantidade exata do produto a ser aplicada.

Trata-se, portanto, de um produto tecnológico que utiliza em sua composição um princípio ativo com atividades biológicas comprovadas, com a vantagem de apresentar uma liberação controlada, adicionado em uma base de uso conhecido e de fácil incorporação. Ademais, destacamos que esses resultados estimulam a continuidade do emprego dessa formulação em ensaios com animais para a avaliação de sua ação na cicatrização de lesões e, posteriormente, estudos clínicos para avaliar seu efeito na prevenção e também no tratamento de lesões de pele, como a radiodermite, lesões periestoma e lesões por pressão, áreas de interesse para a enfermagem.

Conclusão

A hipótese de que a formulação de lanolina, contendo micropartículas de *Chamomilla recutita* (L.) rauschert revestidas com quitosana, seria segura para

a aplicação na pele íntegra de voluntários saudáveis foi confirmada. Apesar de um caso isolado de eritema, esse fato não foi confirmado em outros; houve alteração na melanina, atribuída como efeito protetor da formulação; não houve descamação; um participante relatou dor, com regressão espontânea e breve; não proporcionou prurido ou ardor no período analisado.

Os resultados demonstraram uma melhora na hidratação cutânea no local de aplicação da formulação com a camomila; a avaliação subjetiva da sensação de hidratação pelos voluntários ao final do período foi positiva em todos os locais avaliados.

Referências

1. Wheeler T. Our outermost boundary: the skin. *Nurs Residential Care*. 2012; 14(11):570-3. doi: <https://doi.org/10.12968/nrec.2012.14.11.570>
2. Mclafferty E, Hendry C, Alistair F. The integumentary system: anatomy, physiology and function of skin. *Nurs Stand*. 2012 Sept; 27(3):35-42. doi: <http://dx.doi.org/10.7748/ns.27.3.35.s52>
3. Watkins J. Skin rashes, part 1: Skin structure and taking a dermatological history. *Practice Nurs*. 2013; 24(1):30-3. doi: <https://doi.org/10.12968/pnur.2013.24.1.30>
4. Nóbrega AT, Wagemaker TAL, Campos PMBG. Antioxidant activity of *Matricaria chamomilla* L. extract and clinical efficacy of cosmetic formulations containing this extract and its isolated compounds. *Biomed Biopharm Res*. [Internet]. 2013 [cited 2017 Aug 20]; 10(2):249-61. Available from: http://www.alies.pt/BBR%20Editions/Vol-10-2-2013/Article10_10n2.pdf
5. Avonto C, Rua D, Lasonkar PB, Chittiboyina AG, Khan IA. Identification of a compound isolated from German chamomile (*Matricaria chamomilla*) with dermal sensitization potential. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2017; 318:16-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.01.009>
6. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa nº 5 de 11 de dezembro de 2008. Determina a publicação da lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado [Internet]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, dez, 2008. [Acesso 13 jan 2018]. Available from: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/int0005_11_12_2008.html
7. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira [Internet]. Brasília: Anvisa; 2016. [Acesso 13 jan 2018]. 115p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/2909630/Memento+Fitoterapico/a80ec477-bb36-4ae0-b1d2-e2461217e06b>

8. Lins R, Vasconcelos FHP, Leite RB, Coelho-Soares RS, Barbosa DN. Clinical evaluation of mouthwash with extracts from aroeira (*Schinus terebinthifolius*) and chamomile (*Matricaria recutita* L.) on plaque and gingivitis. *Rev Bras Pl Med.* 2013; 15(1):112-20. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000100016>.
9. Tomic M, Popović V, Petrović S, Stepanović-Petrović R, Micov A, Pavlović-Drobac M, et al. Antihyperalgesic and Antiedematous Activities of Bisabolol-Oxides-Rich *Matricaria* Oil in a Rat Model of Inflammation. *Phytother Res.* 2014; 28(5):759-66. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.5057>.
10. Braga FTMM, Santos AC, Bueno PC, Silveira RC, Santos CB, Bastos JK, et al. Use of *Chamomilla recutita* in the prevention and treatment of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a randomized, controlled, phase II clinical trial. *Cancer Nurs.* 2015; 38(4):322-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1097/NCC.0000000000000194>.
11. Reis PED, Carvalho EC, Bueno PCP, Bastos J.K. Clinical application of *Chamomilla recutita* in phlebitis: dose response curve study. *Rev. Latino-Am. Enfermagem.* 2011; 19(1): 8telas. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-11692011000100002>.
12. Malheiros FBM, Garcia AC, Souza LMA, Silva CA. Cicatrizant effect of the fluid extract of *Chamomile recutita* (L.) Rauschert in magistral semisolid formulations on cutaneous lesions in rats. *ConScientiae Saúde.* 2011; 10(3):425-32. doi: <http://dx.doi.org/10.5585/ConsSaude.v10i3.2541>.
13. Kazemian H, Ghafourian S, Sadeghifard N, Houshmandfar R, Badakhsh B, Taji A, et al. In vivo Antibacterial and Wound Healing Activities of Roman Chamomile (*Chamaemelum nobile*). *Infect Disord Drug Targets.* 2018; 18:41-5. doi: <https://doi.org/10.2174/1871526516666161230123133>
14. Miraj S, Alesaeidi S. A systematic review study of therapeutic effects of *Matricaria recutita* chamomile (chamomile). *Electron Physician.* 2016; 8(9):3024-31. doi: <http://dx.doi.org/10.19082/3024>
15. Srivastava J K, Gupta S. Extraction, characterization, stability and biological activity of flavonoids isolated from chamomile flowers. *Mol Cell Pharmacol.* [Internet]. 2009 [cited 2017 Aug 20]; 1(3):138. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2809371/>.
16. Coutinho MAS, Muzitano MF, Costa SS. Flavonoids: Potential Therapeutic Agents for the Inflammatory Process. *Rev Virtual Quim.* 2009; 1(3):241-56. doi: <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20090024>.
17. Bijak M, Saluka J, Tsirigotis-Maniecka M, Komorowska H, Wachowicz B, Zaczynsk E, et al. The influence of conjugates isolated from *Matricaria chamomilla* L. on platelets activity and cytotoxicity. *Int J Biol Macromol.* 2013; 61:218-29. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.046>.
18. Subiza JL, Hinojosa M, Garcia R, Jerez M, Valdivieso R, Subiza ES. Anaphylactic reaction after the ingestion of chamomile tea: A study of cross-reactivity with other composite pollens. *J Allergy Clin Immunol.* 1989; 84(3):353-8. doi: [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(89\)90420-X](https://doi.org/10.1016/0091-6749(89)90420-X).
19. Gilissen L, Huygens S, Goossens A. Allergic contact dermatitis caused by topical herbal remedies: importance of patch testing with the patients' own products. *Contact Dermatitis.* 2018; 78: 177-84. doi:10.1111/cod.12939.
20. Švehlíková V, Bennett RN, Mellon FA, Needs PW, Piacente S, Kroon PA, et al. Isolation, identification and stability of acylated derivatives of apigenin 7-O-glucoside from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert). *Phytochemistry.* 2004; 65(16):2323-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.07.011>.
21. Pereira SV. Microstructured systems containing *Chamomilla recutita* L. extract for dermocosmetic applications. [Tese]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo; 2015. Available from: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-12052015-114418/pt-br.php>
22. Hostetler GL, Riedl KM, Schwartz SJ. Effects of food formulation and thermal processing on flavones in celery and chamomile. *Food Chem.* 2013; 141(2):1-14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.051>.
23. Rolim AEH, Carvalho FAA, Costa RCC, Rosa FP. Chitosan Scaffolds - Physico-Chemical and Biological Properties for Bone Repair. *Rev Virtual Quim.* 2018; 10(2):211-28. doi: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180018>
24. Pereira GG, Santos-Oliveira R, Albernaz MS, Canema D, Weismüller G, Barros EB, et al. Microparticles of Aloe vera/vitamin E/chitosan: Microscopic, a nuclear imaging and an in vivo test analysis for burn treatment. *Eur J Pharm Biopharm.* 2014; 86(2):292-300. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.10.011>.
25. Blažević F, Milekić T, Romić MD, Juretić M, Pepić, I, Filipović-Grčić J, et.al. Nanoparticle-mediated interplay of chitosan and melatonin for improved wound epithelialisation. *Carbohydr Polym.* 2016; 146(1):445-54. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.074>.
26. Jaiswal M, Koul V, Dinda AK. In vitro and in vivo investigational studies of a nanocomposite-hydrogel-based dressing with a silver-coated chitosan wafer for full-thickness skin wounds. *J Appl Polym Sci.* 2016; 133(21). doi: <http://dx.doi.org/10.1002/app.43472>.
27. Dragostin OM, Samal SK, Dash M, Lupascu F, Pânzariu A, Tuchilus C, et al. New antimicrobial chitosan derivatives for wound dressing applications.

- Carbohydr Polym. 2016; 5(141):28-40. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.078>.
28. Caetano GF, Frade MAC, Andrade TAM, Leite MN, Bueno CZ, Moraes AM, et al. Chitosan-alginate membranes accelerate wound healing. *J Biomed Mater Res.* 2015; 103B(5):1013-22. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.b.33277>.
29. Ribeiro MP, Morgado PI, Miguel SP, Coutinho P, Correia IJ. Dextran-based hydrogel containing chitosan microparticles loaded with growth factors to be used in wound healing. *Materials Sci Engineering.* 2013; C33:2958-66. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.03.025>.
30. Custódio CA, Cerqueira MT, Marques AP, Reis RL, Mano JF. Cell selective chitosan microparticles as injectable cell carriers for tissue regeneration. *Biomaterials.* 2015; 43:23-31. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.11.047>.
31. Sagiri SS, Behera B, Pal K, Basak P. Lanolin-based organogels as a matrix for topical drug delivery. *J Appl Polym Sci.* 2013; 128(6):3831-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/app.38590>.
32. Thorat SB, Banarjee SK, Gaikwad DD, Jadhav SL, Tharat RM. Clinical trial: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research [Internet].* 2010 [cited 2017 Dec 10]; 1(2):101-6. Available from: <http://global-research-online.com/volume1issue2/Article%20019.pdf>
33. Pereira SV, Reis RAS, Garbuio DC, Freitas LAP. Dynamic maceration of *Chamomilla recutita* (L.) Rauscher inflorescences: optimal conditions for flavonoids and antioxidant activity. *Rev Bras Farmacogn.* 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.11.006>
34. Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 5ª ed. Parte I e II. Brasília, Brasil. 524p. Available from: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm.
35. Ministério da Saúde (BR). Instruções operacionais: informações necessárias para a condução de ensaios clínicos com fitoterápicos. [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2008. [Acesso 18 fev 2018]. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapicos.pdf>.
36. Oliveira CA, Dario MF, Sarruf FD, Mariz IFA, Velasco MVR, Rosado C, et al. Safety and efficacy evaluation of gelatin-based nanoparticles associated with UV filters. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2016; 140:531-7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.11.031>.
37. Reis C, Antunes AF, Rijo P, Baptista M, Mota JP, Rodrigues LM. A novel topical association with zinc oxide, chamomile and aloe vera extracts - stability and safety studies. *Biomed Biopharm Res.* 2015; 12(2):251-64. doi: <http://dx.doi.org/10.19277/bbr.12.2.122>.
38. Costa A, Pires MC, Fabricio LHZ, Torloni LBO, Langen S, Botero EB. Multicenter clinical study to evaluate safety and clinical efficacy of a body moisturizer based on ceramides, omegas, glycerin, Imperata cylindrica, erythritol, and homarine. *Surg Cosmet Dermatol.* [Internet]. 2014 [cited 2017 Aug 20]; 6(1):32-8. Available from: <http://www.surgicalcosmetic.org.br/detalhe-artigo/309/Estudo-clinico-multicentrico-para-avaliacao-de-seguranca-e-eficacia-clinica-de-um-hidratante-corporal-a-base-de-ceramidas--omegas--glicerina--Imperata-cilindrica--erythritol-e-homarine>.
39. Nedelec B, Forget NJ, Hurtubise T, Cimino S, Muszka F, Legault A, et al. Skin characteristics: normative data for elasticity, erythema, melanin, and thickness at 16 different anatomical locations. *Skin Res Technol.* 2016; 22:263-75. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/srt.12256>.
40. Sandby-Moller J, Poulsen T, Wulf HC. Epidermal thickness at different body sites: relationship to age, gender, pigmentation, blood content, skin type and smoking habits. *Acta Derm Venereol.* 2003; 83:410-3. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/00015550310015419>.
41. Firooz A, Sadr B, Babakoochi S, Sarraf-Yazdy M, Fanian F, Kazerouni-Timsar A, et al. Variation of biophysical parameters of the skin with age, gender, and body region. *Scientific Wld J.* 2012; doi: <http://dx.doi.org/10.1100/2012/386936>.
42. Marrakchi S, Maibach HI. Biophysical parameters of skin: map of human face, regional, and age-related differences. *Contact Dermatitis.* 2007; 57:28-34. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0536.2007.01138.x>.
43. Teller P, White TK. The Physiology of wound healing: injury through maturation. *Surg Clin N Am.* 2009; 89:599-610. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.suc.2009.03.006>.
44. Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhel KP, Takiwaki H, Serup J. Guidelines for measurement of skin colour and erythema. *Contact Dermatitis.* 1996; 35:1-10. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0536.1996.tb02258.x>.
45. Elobeid AS, Eldin AK, Abdelhalim MAK, Haseeb AM. Pharmacological Properties of Melanin and its Function in Health. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2017; 120:515-22. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/bcpt.12748>.
46. Matsunaka H, Yamamoto Y, Furukawa F. Non-invasive quantification of melanin in the stratum corneum: a novel indicator of skin lesions in pigmentation diseases. *Skin Res Technol.* 2017; 23(1):104-11. doi: [10.1111/srt.12309](https://doi.org/10.1111/srt.12309).
47. Waqas MK, Akhtar N, Bakhsh S, Caldeira EJ, Khan BA. Skin Lightening and Sebum Control Efficacy of a Cosmetic Emulsion Containing Extract of Tamarind Seeds on Asian Skin Type. *Lat Am J Pharm.*

- [Internet]. 2015 [cited 2017 Aug 20]; 34(3):570-5. Available from: http://www.academia.edu/30222560/_Skin_Lightening_and_Sebum_Control_Efficacy_of_a_Cosmetic_Emulsion_Containing_Extract_of_Tamarind_Seeds_on_Asian_Skin_Type.
48. Delarmelina JM, Batitucci CMCP, Gonçalves JLO. The cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of *Matricaria chamomilla* L. tincture in vivo. *Rev Cubana Plantas Med.* [Internet]. 2012 [cited 2017 Aug 20]; 17(2):149-59. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962012000200004&lng=es.
49. Friedman AJ, Phan J, Schairer DO, Champer J, Qin M, Pirouz A, et al. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of chitosan–alginate nanoparticles: a targeted therapy for cutaneous pathogens. *J Invest Dermatol.* 2013; 133:1231-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2012.399>.
50. Martins EF, Pereira LM, Lima TM, Aguiar GR, Chen SC, Folador A, et al. Influence of Lanolin on Cicatrization. *Saúde Rev.* [Internet]. 2005 [cited 2017 Aug 20]; 7(16):19-25. Available from: <https://educacaofisicaufvjm.files.wordpress.com/2015/09/influencia-da-lanolina-na-cicatrizac3a7c3a3o.pdf>.

Recebido: 16.02.2018

Aceito: 26.08.2018

Autor correspondente:
Danielle Cristina Garbuio
E-mail: danigarbuio@anhanguera.com / dgarbuio@yahoo.com.br
 <https://orcid.org/0000-0002-0516-5213>

Copyright © 2018 Revista Latino-Americana de Enfermagem
Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Licença Creative Commons CC BY.

Esta licença permite que outros distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original. É a licença mais flexível de todas as licenças disponíveis. É recomendada para maximizar a disseminação e uso dos materiais licenciados.