

BJNS

Brazilian Journal of Natural Sciences

Edição patrocinada pela:



DESTAQUE DESTA EDIÇÃO

Nesta edição apresentamos bandeiras distintas através dos artigos publicados da **Etiópia, Índia, Perú e Brasil**.



Etiópia



Índia



Perú



Brasil

WWW.BJNS.COM.BR

ISSN 2595-0584 - V.3 N.2
Julho 2020
Revista eletrônica

O Brazilian Journal of Natural Science é uma publicação oficial do Instituto de Osmologia e Óleos Essenciais - iooe, e tem como missão publicar artigos científicos relevantes no sentido mais amplo dos diferentes aspectos das ciências naturais. Com periodicidade quadrimestral, nosso objetivo é interagir com pesquisadores, professores e alunos em instituições de ensino e pesquisa como: Projetos de atividade extracurricular, seminários, palestras, resumos, resenhas, projetos de ensino, experiências e criação literária na área da química, física e biologia e demais.

Editor Chefe:

Carlos Jorge Rocha Oliveira - Health Sciences Journals Publishing - São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Editor Associado:

Carlos Rocha Oliveira - Universidade Anhembi Morumbi - São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Corpo Editorial:

Ana Maria de Lauro Castrucci - Departamento de Fisiologia - IB-Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Claudia Bincoletto Trindade - Departamento de Farmacologia - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Daniel Antunes Junior, Faculdades Oswaldo Cruz - São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Fernando do Amaral - Instituto de Osmologia e Óleos Essencias - São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Ivarne Luis dos Santos Tersariol - Universidade Federal de São Paulo - São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Maira de Oliveira Jardim - Faculdades Oswaldo Cruz - São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Marcelo Guimarães - Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Maria Cristina Marcucci Ribeiro - ICT-Unesp São José dos Campos - São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Valeria Maria de Souza Antunes - Universidade Anhembi Morumbi - São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Revisores Ad hoc:

Ana Lúcia Severo Rodrigues - Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Rogério da Silva Veiga - Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo - Brasil. "[Lattes](#)" - "[ORCID](#)"

Periodicidade:

Quadrimestral.

Autor Corporativo:

Instituto de Osmologia e Óleos Essenciais

Rua Dr. Mario Pinto Serva, 64, Bairro Casa Verde, São Paulo/SP, Brasil

CEP: 02555-090

CNPJ: 25.299.891/0001-50

CONTEÚDO

<i>Página</i> 304	Editorial Carlos Jorge Rocha Oliveira
Artigos Originais	
<i>Página</i> 305	PHYTOCHEMICAL SCREENING, CHARACTERIZATION OF ESSENTIAL OIL AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SCHINUS MOLLE (ANACARDIACEAE) COLLECTED FROM EASTERN HARARGHE, ETHIOPIA Tsfahun Lamboro, Melese Mengistu, Teshome Gonfa Hordofa
<i>Página</i> 316	PRELIMINARY OBSERVATIONS OF PLASTIC DEBRIS IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF SEA URCHIN TETRAPYGUS NIGER Gabriel Enrique De-la-Torre, Diana Carolina Dioses-Salinas, Sandra Huamantupa-Aybar, Joseph Davila-Carrasco
<i>Página</i> 321	APLICAÇÃO DA FERRAMENTA FMEA PARA ANÁLISE DE NOTIFICAÇÕES DE QUEIXAS TÉCNICAS DE MEDICAMENTOS SÓLIDOS NO CONTEXTO DE QUALITY BY DESIGN Caroline Bicouv, Luiza Novaes Alves Pereira, Leandro Giorgetti
Artigo de Revisão	
<i>Página</i> 335	A IMPORTÂNCIA DA FOTOEDUCAÇÃO NA PREVENÇÃO DO CÂNCER DE PELE Augusto César de Melo Almeida, Renato Santos de Oliveira Filho, Heitor Carvalho Gomes, Guilherme Routh Peixoto, Lydia Masako Ferreira
<i>Página</i> 342	PHYLLANTHUS NIRURI L. (STONE-BREAKER) AS AN ALTERNATIVE OF ANTI-HUMAN DISEASES, ANTIMICROBIAL AGENT, AND ITS APPLICABILITY TO COMBAT RESISTANT MICRORGANISMS. A BRIEF REVIEW. Flávia Camila Maia, Gayan Kanchana Wijesinghe, Thaís Rossini de Oliveira, Janaina Priscila Barbosa, Simone N. Busato de Feiria, Giovana C. Boni, Marcelle Marie Buso Ramos, Paula Cristina Anibal, José Francisco Höfling

<p><i>Página</i> 354</p>	<p>A COMPREHENSIVE REVIEW ON CITRUS AURANTIFOLIA ESSENTIAL OIL: ITS PHYTOCHEMISTRY AND PHARMACOLOGICAL ASPECTS Shagun Jain, Poonam Arora, Harvinder Popli</p>
<p><i>Página</i> 365</p>	<p>TERAPIA COMBINADA PARA TRATAMENTO DAS ESTRIAS PÓS PURPÉRIO: BENEFÍCIOS DA RADIOFREQUÊNCIA, VACUOTERAPIA E FATORES DE CRESCIMENTO Esthefani Santos Silva, Flavia Rodrigues Gonçalves Penha, Itajaci Carvalho da Silva Paranhos, Maysa Heiko Fukamachi Bernardes, Suzane Siqueira de Figueiredo, Leticia Almeida, Luciana de Almeida Ferreira</p>

EDITORIAL

Em meio a tantas dificuldades, mesmo diante da que vivemos neste momento, em escala mundial, o Brazilian Journal of Natural Sciences segue sua trajetória de crescimento e comprometimento com a divulgação da ciências naturais.

Na busca sempre de um editorial ético e compromissado com as universidades em seus cursos de graduação e pós-graduação, através de seus alunos e professores pesquisadores, o Brazilian Journal of Natural Sciences continua sua caminhada para se tornar um periódico de referência nacional e internacional.

Nesta edição apresentamos bandeiras distintas através dos artigos publicados como: Etiópia, Índia, Perú e Brasil.

O Brazilian Journal of Natural Sciences está cumprindo seu papel de diminuir a distância física das informações e dos pesquisadores, aproximando-os de forma a criar um ambiente fraterno onde a academia, a ciência e a pesquisa possam usar um mesmo espaço para conversarem e exporem suas contribuições científicas.

Somos muito agradecidos aos alunos, professores pesquisadores e as universidades que contribuíram com esta edição nos deixando felizes e orgulhosos com nosso periódico.

Abraços fraternos a todos (as).

Carlos Jorge Rocha Oliveira
Editor Chefe

EDITORIAL

In the midst of so many difficulties, even in the face of what we are experiencing at the moment, on a global scale, the Brazilian Journal of Natural Sciences follows its trajectory of growth and commitment to the dissemination of natural sciences.

Always seeking an ethical and committed editorial with universities in its undergraduate and graduate courses, through its students and research professors, the Brazilian Journal of Natural Sciences continues its journey to become a national and international reference journal.

In this edition we present different flags through articles published as: Ethiopia, India, Peru and Brazil.

The Brazilian Journal of Natural Sciences is fulfilling its role of reducing the physical distance of information and researchers, bringing them together in order to create a fraternal environment where academia, science and research can use the same space to talk and expose their scientific contributions.

We are very grateful to the students, research professors and universities that contributed to this edition, making us happy and proud with our journal.

Fraternal hugs to all.

Carlos Jorge Rocha Oliveira
Editor-in chief

Original article

PHYTOCHEMICAL SCREENING, CHARACTERIZATION OF ESSENTIAL OIL AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SCHINUS MOLLE (ANACARDIACEAE) COLLECTED FROM EASTERN HARARGHE, ETHIOPIA

Authors: Tesfahun Lamboro¹, Melese Mengistu² and Teshome Gonfa Hordofa³

¹Department of Food Science and Postharvest Technology, Institute of Technology, Haramaya University, Ethiopia, P. O. Box 138, Dire Dawa. ²School of Plant Sciences, College of Agriculture and Environmental Sciences, Haramaya University, Ethiopia, P. O. Box 138, Dire Dawa. ³Department of Chemistry, College of Natural and Computational Sciences, Haramaya University, Ethiopia, P. O. Box 138, Dire Dawa.

Article ID

Keywords:
Schinus molle,
phytochemical, essential
oil, GC-MS, antimicrobial
activity

Abstract

In the present study, antibacterial activity of leaf, stem bark and root bark extracts of *Schinus molle* (Anacardiaceae) was evaluated against two bacterial (*Xanthomonas* and *Ranstonia*) and two fungal (*Aspergillus niger* and *Fusarium verticillioides*) species using agar diffusion method. The stem and root ethanol extracts of *Schinus molle* exhibited relatively higher zone of inhibition (11.3mm) against *Xanthomonas campestris*, pv. *Campestris*. Higher zone of inhibition (10mm) was also observed by the ethanolic extracts of the root of *Schinus molle* against *Fusarium verticillioides* followed by the chloroform extracts of the root (8mm) against *Aspergillus niger*. Phytochemical analysis of leaf, stem bark and root bark extracts of *Schinus molle* revealed the presence of flavonoids, alkaloids, saponins, steroids, terpenoids, phenols, quinines, carbohydrates and proteins. The occurrence of these biologically active chemicals in the plants parts may justify their wide usage in traditional medicine. From GC-MS analysis, three terpenoids namely monoterpene (66.02%) as a major components, sesquiterpene hydrocarbons (13.63%) and oxygenated sesquiterpenes (11.07%) were identified from the roots. The essential oils obtained from leaf have been also rich in oxygenated sesquiterpenes (68.28%), followed by sesquiterpene hydrocarbons (18.33%), and alcohols (5.17%). The finding indicated that essential oils from different parts of *Schinus molle* have a promising potential on inhibiting activity of pathogenic microbes.

*Corresponding author:

Tesfahun Lamboro – e-mail: tesfahunlamboro@gmail.com – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6379-3007>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.93> - Article received on March 21, 2020; Accepted on May 6, 2020; published on 23 July 2020 in the Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.2, online, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. All authors contributed equally to the article. The authors declare that there is no conflict of interest. This is an open access article under the CC - BY license: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Introduction

For thousands of years, human beings used plants to treat various ailments and still many peoples from developing countries rely on traditional doctors and the collections of medicinal plants to treat health problems (Mehani and Segni, 2013). The medicinal plants are the plants whose parts (leaf, seed, fruits, stems, roots, barks), extracts, infusions, decoctions, powders are used in the treatment of different diseases of humans, plants and animals (Samy, 2005). The medicinal value of plants lies in some chemical substances that produce a definite physiological action on the human or animal body part of the plant. Extracts of many plants are highly efficient against parasitic as well as microbial infections (Bharti *et al.*, 2013; Jameela *et al.*, 2016; Parekh and Chanda, 2006). Unlike synthetic pesticides and fungicides, antimicrobials of plant origin are not associated with many side effects and are environmental friendly.

The essential oils are volatile aromatic substance extracted from the plant. They are produced in aromatic and medicinal plants as secondary metabolites and are obtained from various plant parts (flower, seed, leaves, bark, herbs, wood, fruits and roots) and stored in secretory cells, cavities, vessels, or epidermal cells called glandular trichomes (Pedro, 2012). They have many therapeutic properties. In herbal medicine, they are used for their antiseptic properties against infectious diseases of fungal and bacterial origin (Mehani and Segni, 2013). The inherent activity of an oil extract may be related to its chemical composition, the proportions of the components and the interactions between them. The chemical composition of the essential oil consists mainly of monoterpene hydrocarbons (e.g., α -pinene, β -pinene, sabinene, terpinen-4-o), and some sesquiterpenes such as (+) spathulenol and germacrene-D (Lisin *et al.*, 1999). Essential oils act against microorganisms often causing instability in the plasma membrane leading to cell lysis. Although the antimicrobial activity can be triggered by a single chemical compound, it usually appears to result from a synergy between several chemicals in the oil (Bhavanani and Balow, 1992; Elhayouni *et al.*, 2008).

Schinus molle L. (Anacardiaceae) is one of very important medicinal plant native to Argentina, Bolivia and Peru but has since been introduced to Ethiopia and known with local name as “Kundo

Berberé” (Amharic) (Basil and Zakaria, 2014). This plant plays an important role in pharmacology and pharmaceutical chemistry because of its high essential oil content in its different parts (Belhamel *et al.*, 2008). In Ethiopia, especially in Eastern part of Ethiopia, the fresh leave was traditionally used to repel insects. The insecticide effect of this plant might be combination of bio active intergradients produce a physiologic action on the insects.

Some studies have concluded that the Essential oils as a whole have much greater antibacterial activity than a mixture of the major components, which suggests that minor components are critical for this activity and may have a synergistic effect or potentiating influence (Burt, 2004; Ljale and Unnithan, 2014; Marongiu *et al.*, 2004). However, in Ethiopia, there is no sufficient work on antimicrobial effect of leaf, stem bark, fruit and root bark extract of *S. molle* on growth and activity of different fungal and bacterial strains. Therefore, this study was aimed to screen phytochemicals, investigated the chemical constituent of essential oils and evaluates antimicrobial activities of leaf; stem and root bark extracts of *S. molle* against selected plant pathogens (*Fusariumverticillioides*, *Aspergillusniger*, *Xanthomonascampestris*, pv. *Campestris* and *Ralstoniasolanacearum*).

Material and Methods

Plant Material Collection

The aerial parts (stem bark and leaf) and root bark of *Schinus molle* plant were collected from Eastern Hararghe, Ethiopia. Fresh plant materials were thoroughly washed under tap water, dried with blotting paper and made ready for extraction. The plant species deposited at the National Herbarium of the Addis Ababa University, Ethiopia and a voucher specimen (No. TT-12) has been given.

Preparation of Plant Extracts

Fresh plant parts (stem and root barks and leaf of *Schinus molle*) were collected and thoroughly washed under tap water and shade-dried at room temperature or three weeks. The dried plant parts were crushed to fine powder using an electric grinder. Exposure to direct sunlight was avoided to prevent the loss of active components. The powder of collected plant

materials (50 grams of each plant parts) were extracted successively with 600 mL of n-hexane, chloroform and ethanol for 6 hours using Soxhlet extraction. Each solvent was removed by rotary flash evaporator at lower temperature under reduced pressure and the crude extracts were stored in dark vials at 4°C for future uses.

Hydro-distillation and purification of essential oil

The fresh leaf and stem bark of *Schinus molle* (600mg) was soaked in water at a ratio of 1:2 (w/v) and subjected to hydro-distillation for 6 hours using a modified Clevenger type glass apparatus. The essential oil was separated from the aqueous layer by separatory funnel, using the non-polar chloroform as a solvent. The residual oil was dried over anhydrous Na_2SO_4 and kept in a refrigerator (5°C) for subsequent experiments. Analysis of essential oil was carried out by Clarus 600/600 P Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (Perkin Elmer, USA) system.

Microbial Culture preparation

Bacterial species (*Xanthomonas campestris*, pv. *Campestris* and *Ralstonia solanacearum*.) were used for the antibacterial screening in this study. These organisms were maintained on agar slope at 4°C and sub-cultured for 24hr before use. Similarly, the fungal plant pathogens *Fusarium verticillioides* and *Aspergillus niger* were used for the antimicrobial test of the extract.

Microbial Susceptibility Testing

Standardized inoculums with 0.5 McFarland standards were introduced onto the surface of sterile agar plates, and a sterile glass spreader was used for even distribution of inoculums. McFarland is a barium sulphate standard against which the turbidity of the test and controlled inoculum was compared. McFarland was prepared by mixing two, solution "A" is 1 % v/v solution of sulphuric acid (H_2SO_4) and solution "B" is 1 % w/v solution of barium chloride (BaCl_2). To get 0.5 McFarland standard, concentration equivalents to cell density of about 10^7 - 10^8 CFUg⁻¹, the amount of 0.5 ml BaCl_2 of 1 % solution "A" was mixed with 99.5 ml H_2SO_4 of 1 % solution "B" (Bauer *et al.*, 1966). A sterile paper disc previously soaked in known

concentration of extracts will be carefully placed at the centre of the seeded labeled agar. The plates were incubated aerobically at 37°C and examined for zone of inhibition after 24 hrs. Each zone of inhibition was measured with a ruler and compared with the control (Bauer *et al.*, 1966).

Determination of Total Tannin and Phenol Content

Tannin

Condensed tannin was analyzed by vanillin-HCl method of (Price *et al.*, 1980) using the modified Vanillin-HCl methanol method. The Vanillin-HCl reagent was prepared by mixing equal volume of 8% concentrated HCl in methanol and 1% Vanillin in methanol. The solutions of the reagent were mixed just prior to use. About 0.2 g of the ground sample was placed in small conical flask. Then 10 mL of 1% concentrated HCl in methanol was added. The conical flask was capped and continuously shaken for 20 min and the content then is centrifuged at 2500 rpm for 5 minutes. About 1mL of the supernatant was pipette into a test tube containing 5 mL of Vanillin-HCl reagent. Absorbance at 450 nm was read on spectrophotometer after 20 minutes incubation at 30°C. A blank sample was also analyzed and its absorbance was subtracted from sample absorbance. A standard curve also prepared from catechin (1 mg/mL). Tannins content was expressed as catechin equivalent as follows:

$$\text{Tannin(\%)} = \frac{C \times 10 \times 100}{200}$$

Where: C is concentration corresponding to the optical density, 10 is volume of the extract (mL), 200 is sample weight (mg).

Phenolic

Total phenolic content was determined according to Folin-Ciocalteu method (Sharma and Gupta, 2010). Sample 200 mg was extracted with 4mL of acidified methanol (HCL/Methanol/water, 1:80:10 v/v/v) at room temperature (25°C) for 2 hrs. Aliquot of extract (200 μL) was added to 1.5 mL freshly diluted (10 fold) Folin-Ciocalteu reagent. The mixture was allowed to equilibrate for 5 min and then mixed

with 1.5 mL of sodium carbonate solution (60 g/l). After incubation at room temperature (25°C) for 90 min, the absorbance of mixture was read at 725 nm (6505 uv/vis spectrophotometer, Model 6505, U.K, GENWAY). Acidified methanol was used as a blank. From the stock solution of standard gallic acid, a series of six standard solutions (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35 ppm) was prepared. The amount of total phenolic was estimated from the calibrated curve as gallic acid equivalent (GAE) in milligram per kilogram of sample. Total phenolic content was calculated by the following formula:

$$\text{Total phenolic (ppm)} = \frac{(\mu\text{g/mL}) \times \text{Df} \times 100}{\text{Sample mass (db)}}$$

Where: $\mu\text{g/mL}$ is the absorbance reading concentration, Df is dilution factor.

Procedure of Phytochemical Tests

The different qualitative chemical tests were performed for establishing the profile of given extracts to detect various phyto-constituents present in them. The phytochemical were analyzed according to standard screening tests using conventional procedures.

Test for Flavonoids

Lead acetate Test: -Extracts were treated with few drops of lead acetate solution. Formation of yellow colour precipitate indicates the presence of flavonoids.

Test for Alkaloids:

Wagner's Test: -Filtrates were treated with Wagner's reagent (Iodine in Potassium Iodide). Formation of brown/reddish precipitate indicated the presence of alkaloids.

Hager's Test: -Filtrates were treated with Hager's reagent (saturated picric acid solution). Presence of alkaloids was confirmed by the formation of yellow coloured precipitate.

Detection of Saponins

Foam Test: 0.5 gm of extract was shaken with 2 mL of water. If foam produced persists for ten minutes it indicates the presence of saponins.

Test for Steroid

5 drops of concentrated H_2SO_4 was added to 1cm³ of the extract. A reddish brown colour indicates the presence of steroids.

Test for Terpenoids

Salkowski test; - 5 mL of various solvent extract was mixed in 2 mL of chloroform followed by the careful addition of 3 mL concentrated (H_2SO_4). A layer of the reddish brown coloration was formed at the interface thus indicating a positive result for the presence of terpenoids.

Detection of Phenols

Ferric Chloride Test: Extracts were treated with 3-4 drops of ferric chloride solution. Formation of bluish black colour indicates the presence of phenols.

Test for Quinones

One ml of each of the various extracts was treated separately with ferric chloride solution. Quinines give coloration ranging from red to blue.

Test for Carbohydrates

Molisch test: Treat extract with few drops of alcoholic alpha-naphthol. Add 0.2mL concentrated sulphuric acid slowly along the sides of test tube, purple to violet colour ring appears at junction was showed the presence of carbohydrates.

Detection of proteins and amino acids

Xanthoproteic Test: -The extracts were treated with few drops of conc. nitric acid. Formation of yellow colour indicates the presence of proteins.

Ninhydrin Test: -To the extract, 0.25% w/v ninhydrin reagent was added and boiled for few minutes. Formation of blue colour indicates the presence of amino acid.

Data Analysis

The data was analyzed by using simple statistical methods. Experimental results were expressed as

means \pm SD. All measurements were replicated three times.

Results and Discussion

Phytochemical screening of the crude extracts

The different qualitative chemical tests were performed for screening the profile of given extracts

to detect various phyto-constituents present in the plant. The phytochemicals were analyzed according to standard screening tests using conventional procedures. The results of constituents of the crude extract of parts of *Schinus molle* were presented in table 1.

Table 1: -Phytochemical screenings results of crude extracts of leaf, stem and root bark *Schinusmolle*.

No.	Phytochemical Components	Leaf			Stem Bark			Root Bark		
		P ether	CF	Eth	P ether	CF	Eth	P ether	CF	Eth
1	Flavonoids	-	+	+	-	+	+	-	+	+
2	Alkaloids	-	+	+	-	+	+	-	+	-
3	Saponins	-	-	-	-	-	-	-	-	+
4	Steroids	+	+	-	+	+	-	-	-	-
5	Terpenoids	+	-	-	+	-	-	++	++	-
6	Phenols	-	+	+	-	+	+	-	-	+
7	Quinones	-	-	+	-	+	++	-	+	++
8	Carbohydrates	+	+	-	++	+	-	++	+	-
9.	Proteins	-	-	+	-	+	+	-	-	+

Note: ++ = strong presence, + = moderate presence, - = absence: P eth= Petroleum ether, CF= Chloroform and Eth= Ethanol.

Phytochemical screenings results (Table 1) of crude extracts of leaf of *Schinus molle* revealed moderate presence of flavonoids, alkaloids, steroids, phenols and carbohydrates. The crude extracts of steam bark showed strong presence of quinones and carbohydrates and moderate presence of flavonoids, alkaloids, steroid and phenols. Phytochemical screenings of crude extracts of root of schinus molle also showed strong presence of terpenoides, quinones and carbohydrates and moderate presence of flavonoids. Flavonoids were present in both ethanolic and chloroform extracts of leaf, stem and root barks of *Schinus molle*. Similarly, alkaloids were found in both chloroform and ethanol extracts of leaf and stem barks of *Schinus molle*. They were also found in chloroform extracts of root barks while absent in ethanol extracts. Terpenoids were found in petroleum ether extracts of all plants parts while steroids were found in both petroleum and chloroform extracts of leaf and stem barks. Quinones were also present strongly in ethanolic extract of the above-mentioned plant parts. On the other hand, carbohydrates were found all petroleum and chloroform extracts of only

all plant parts.

Tannin and Phenolic content of the different parts of *Schinus molle*

The result of experiment for total tannin and phenol contents from the leaf, stem and root bark was indicated in table 2.

Table 2: Total tannin and phenolic content.

No	Plant part	Tannin mg/g	Total phenol mg/g
1	Stem bark	13.48	177.27
3	Root bark	13.71	167.27
5	Leaf	5.92	58.86

This result showed that, the methanolic extracts of the leaf, root and stem bark of *Schinus molle* showed high amount of total phenolic content when compared to the total tannin in the three parts of the plant.

Similar finding was reported by Kasmi et al, (2016) there by higher phenolic content was observed on the fruit of *Schinus molle* with aqueous solution extracts.

Our findings showed that *Schinus molle* is rich in phenolic compounds which were mainly responsible for several antimicrobial activities due to the trapping potential of free radicals and activation of antioxidants of the cells. Phenols activate the natural defensive mechanism on the microbes.

Antimicrobial activity of leaf, stem and root bark extract of *Schinus molle*

The result for antimicrobial effects of extracts from leaf, stem and root bark of *Schinus molle* against bacterial and fungal plant pathogens were summarized below (Table 3 and 4).

Table 3: Antibacterial activities of leaf, stem and root barks extracts of *Schinus molle*.

Bacteria strains	Plant Part	Mean zone of inhibition (mm) on culture of test bacteria				
		Solvents extract			Control	
		n-Hexane	CF	Ethanol	Positive	Negative
<i>Xanthomonas</i>	Leaf	8.60±0.06	9.33±0.06	8.00±0.20		
	Stem bark	7.00±0.17	9.70±0.06	11.30±0.06	31.00±0.17	0
	Root bark	9.70±0.12	9.30±0.15	11.30±0.06		
<i>Ranstonia</i>	Leaf	3.30±0.06	9.70±0.06	5.70±0.06		
	Stem bark	6.00±0.10	1.70±0.15	6.30±0.12	9.70±0.06	0
	Root bark	9.70±0.12	2.70±0.06	6.70±0.06		

The result revealed that stem and root bark ethanol extracts exhibited relatively higher (11.3mm) inhibition zone against *Xanthomonas campestris*, pv. *Campestris*. The n- hexane extraction of leaf and stem showed relatively less inhibition against *Xanthomonas* as compared to others. *Ralstonia* showed relatively less

inhibition zone (1.7 and 2.7mm) against CF extracts of stem and root. The CF leaf extracts and the n- hexane root extracts showed relatively higher inhibition against *Ralstonia*. As compared to *Xanthomonas*, less inhibition of the plant extracts against *Ralstonia* were observed (Table 3).

Table 4: Antifungal activities of leaf, stem and root barks extracts of *Schinus molle*.

Fungi strain	Plant Part	Mean zone of inhibition(mm) on cultures of test fungi				
		Solvent extracts			Control	
		n-Hexane	CF	Ethanol	Positive	Negative
<i>Aspergillusniger</i>	Leaf	6.30±0.06	5.30±0.056	5.70±0.10		
	Stem bark	6.30±0.06	5.30±0.21	6.30±0.23	33.70±0.06	0±0.00
	Root bark	6.70±0.06	8.00±0.20	6.70±0.12		
<i>Fusariumvert</i>	Leaf	5.70±0.06	1.30±0.06	2.30±0.15		
	Stem bark	5.30±0.31	1.30±0.06	7.00±0.10	24.30±0.06	0±0.00
	Root bark	2±0.100	1.00±0.00	10.00±0.00		

Relatively higher zone of inhibition (10mm) was observed by the ethanolic extracts of the root of *Schinus molle* against *Fusarium verticillioides* followed by the chloroform extracts of the root (8mm) against *Aspergillus niger*. The least zone of inhibition was detected in the chloroform extracts of the root, stem

and leaf extracts against *Fusarium verticillioides*. The n-hexane and chloroform extracts of the plant showed relatively higher zone of inhibition against *Aspergillus niger* than *Fusarium verticillioides* (Table 4).

When the overall zone of inhibition was examined, the crude extracts showed relatively higher zone of

inhibition against the tested bacterial species than fungal species. The ethanol extracts of stem and root showed relatively higher zone of inhibition against the tested bacteria than the other solvent extracts. Overall, the maximum inhibition zone of crude extract in the experiment was (12mm).

A report from Rhouma, *et al*, (2009) in the antimicrobial activity of leaf extracts of *Schinus molle* against *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* showed similar results and the zone of inhibition were between 9-12mm. Another report from (Mehani and Segni, 2013) on the antimicrobial activity of plant extract of *Schinus molle* on four bacterial pathogens (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* and *Klebsiella pneumonia*) with a zone of inhibition 13, 12.33, 11.67 and 10.5mm, respectively which is in agreement with the current finding.

This result could be due to the polarity of the compounds which were extracted by each solvent

and the ability of extracts to diffuse and dissolve in different culture media used in the study. Absence of antimicrobial activity does not mean that the bioactive compounds are not present in the plant or the plant has no activity against microorganisms. Presence of inadequate quantities of active constituent or constituents in the extract to exhibit the antimicrobial activity can be the reason for the negative results.

Chemical composition of essential oil from leave of *Schinus molle*

The major volatile components of essential oils recovered by hydro distillation and their retention time analyzed by GC/MS of *Schinus molle* were summarized in the Table 5 and Fig 1 below. Analysis of essential oil was carried out by Clarus 600/600 P Gas Chromatograph/Mass Spectrometer (GC/MS).

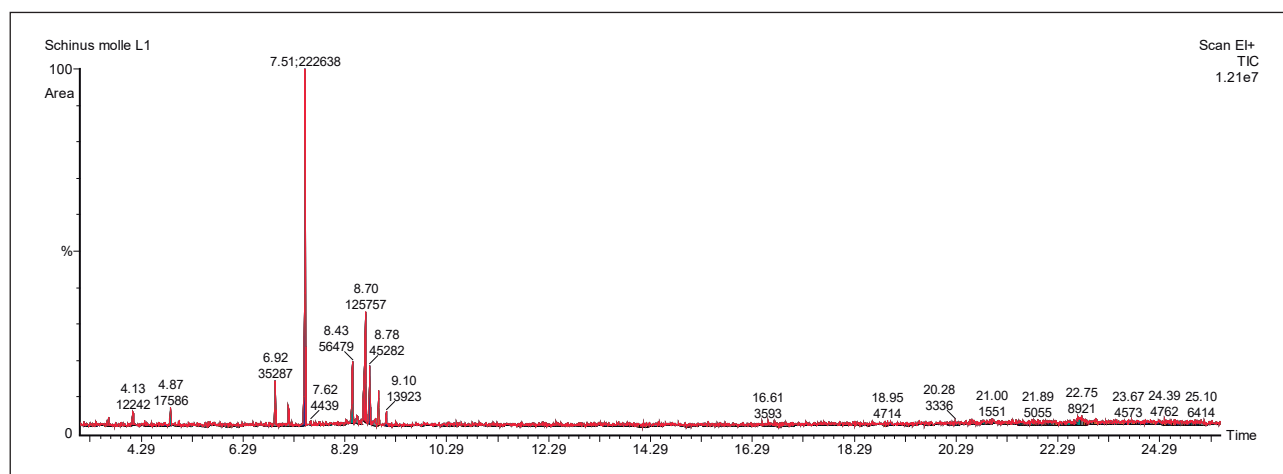


Fig 1: Chromatograms of essential oil from leaf of *Schinus molle*

The result showed three alcohols, three sesquiterpene hydrocarbons, one aromatic hydrocarbon, three oxygenated sesquiterpenes (91.78%) and other compounds (8.21%) totally 99.99% of the essential oils were identified from Ethiopian leaf of *Schinus molle* by GC-MS (Table 5). As shown by their proportion given in the Table 5, the essential oils obtained from leaf have been found to be rich in oxygenated sesquiterpenes (68.28%), followed by sesquiterpene hydrocarbons (18.33%), and alcohols (5.17%). The published literature on the chemical composition of essential oils of *Schinus molle* growing in Egypt revealed that β - eudesmol

(10.34%), elemol (10.27%), β - bisabolol (5.06%) and epi- α -muurolol (3.29%) as the major oxygenated sesquiterpenes (50%) and ρ -cymene (9.42%) as the most abundant monoterpene hydrocarbons (19.4%) in leaf oil (Dalia *et al.*,2016). However, the present study result on the chemical composition of essential oils of *Schinus molle* growing in Eastern Hararge (Ethiopia) was different. These were hedycaryol (38.62%), β - eudesmol (21.81%) and Ar-turmeroneas (7.85%) the major oxygenated sesquiterpenes (68.28%) followed by γ -Eudesmol (9.80%), γ -elemene (6.12%) and α -cubebene (2.41%) as sesquiterpene hydrocarbons (18.33%).

Table 5: Chemical composition of essential oil from leaves of *Schinus molle*

No	Constituent	RT (min)	%
Alcohols			
1	1-Butyl-2-cyclohexen-1-ol	4.13	2.12
2	(2-Penta-2,4-dienyl-cyclohexyl)-methanol	4.87	3.05
3	(S)-(\pm)-5-Methyl-1-heptanol	8.96	n.d
Sesquiterpene hydrocarbons			
4	γ -elemene	6.92	6.12
5	γ -eudesmol	8.43	9.80
6	α -cubebene	9.10	2.41
Aromatic Hydrocarbons			
7	1,4- diethylbenzaldehyde	7.18	n.d
Oxygenated sesquiterpenes			
8	Hedycaryol	7.51	38.62
9	β -eudesmol	8.70	21.81
10	Ar-turmerone	8.78	7.85
Total known identified compounds			91.78
Alcohols			5.17
Sesquiterpene hydrocarbons			18.33
Oxygenated sesquiterpenes			68.28
Others (Unknown or not identified)			8.21

n.d. -not detected

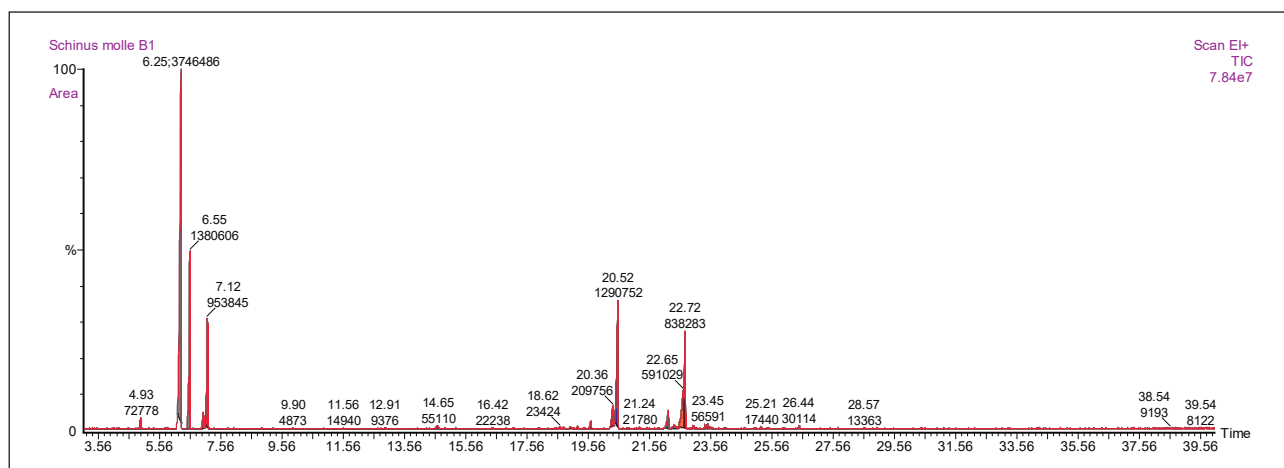
**Fig 2:** Chromatograms of essential oil from steam of *Schinus molle*

Table 6: Chemical composition of essential oil from stem bark of *Schinusmolle*

No	Constituent	RT (min)	%
Monoterpene hydrocarbons			
1	α -pinene	4.93	0.77
2	β -pinene	6.25	39.57
3	α -Phellandrene	6.55	14.58
4	<i>p</i> -Cymene	6.98	1.03
5	d-limonene	7.12	10.07
Sesquiterpene hydrocarbons			
6	α -amorphene	19.64	n.d
7	Germacrene A	20.52	13.63
Oxygenated sesquiterpenes			
8	Elemol	20.36	2.22
9	γ -eudesmol	22.17	n.d
10	Agarospinol	22.72	8.85
Total known identified compounds			90.72
Monoterpene hydrocarbons			66.02
Sesquiterpene hydrocarbons			13.63
Oxygenated sesquiterpenes			11.07
Others (Unknown or not identified)			9.27

n.d. -not detected

According to the GC-MS investigation of the essential oils, it was found that the stem bark of *Schinusmolle* contained, three terpenes (also known as terpenoids or isoprenoids) namely monoterpene (66.02%) as a major component, sesquiterpene hydrocarbons (13.63%) and oxygenated sesquiterpenes (11.07%) were identified from the stem bark. Accordingly (Table 5 and Figure 4), β -pinene (39.57%), α -phellandrene, (14.58%), Germacrene A (13.63%), d-limonene (10.07%) and agarospinol (8.85%) were analyzed as major constituents in stem of these species. According to the published literatures, essential oils collected from *Schinus molle* in Tunisia, the species contained elemol (20.7%), 6-epi-shyobunol (20.36%), d-limonene (16.19%) and α -eudesmol (7.01%) (Kasmi *et al.*, 2016). The stem oil 31% of monoterpene hydrocarbons and 43.82% of oxygenated sesquiterpenes with myrcene (15.28%), β -eudesmol (11.79%), elemol (9.79%), limonene (6.43%) and *p*-cymene (5.91%) were obtained as the major volatile components from the plant leaves in Egypt (Dalia *et al.*, 2016). The differences of chemical

composition in the same plant species might be due to different environmental and geographical factors.

Conclusion

Phytochemical screening results of crude extracts of stem and root bark of *Schinus molle* revealed strong presence of quinones and carbohydrates and moderate presence of flavonoids, alkaloids, steroids and phenols. As compared to chloroform and n-hexane, stem and root bark ethanol extracts exhibited relatively higher (11.3mm) inhibition zone against *Xanthomonas campestris*, pv. *Campestris*. Relatively higher zone of inhibition (10mm) was observed by the ethanolic extracts of the root of *Schinus molle* against *Fusarium verticillioides* followed by the chloroform extracts of the root (8mm) against *Aspergillus niger*. Furthermore, the leaf extract of the plant were characterized and showed three alcohols, three sesquiterpene hydrocarbons, one aromatic hydrocarbon and three oxygenated sesquiterpenes, totally 91.78%) % of the essential oil were identified

by GC-MS. The GC-MS analysis showed, three terpenoids namely monoterpene (66.02%) as a major components, sesquiterpene hydrocarbons (13.63%) and oxygenated sesquiterpenes (11.07%) were identified from the stem bark. The finding indicated that essential oils from different parts of *Schinus molle* have a promising potential on inhibiting activity of pathogenic microbes.

Acknowledgement

This work was supported by a grant from Haramaya University. Therefore, the authors would like to acknowledge Office of Vice President for Research Affairs of Haramaya University, for the providing necessary fund for this study. The authors sincerely thank to the Haramaya University, Department of Chemistry for providing laboratory facilities. We would also like to thanks Mrs. Haymanot Bezabeh, Plant Pathology Laboratory assistant and for her cooperation during the laboratory work on antimicrobial activities. Furthermore, we would like to acknowledge Ambo University, Department of Chemistry for their unreserved cooperation to characterize the essential oil by GC/MS.

References

- BASIL, IBRAHIM and ZAKARIA ALNASER. (2014). **Analysis of fruits *Schinus molle* extractions and the efficacy in inhibition of growth the fungi in laboratory.** International Journal of Chem.Tech. Research; Vol.6, No.5, pp 2799-2806
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. (1996). **Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method.** *American Journal of Clinical Pathology, Volume 45:* 493–496
- BELHAMEL, K.; ABDERRAHIM, A.; LUDWIG R. (2008). **Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Schinus molle* L. grown in Algeria.** *4T Inter J Essential Oil Therapeut., 2:* 175-177.
- BHARTI, D.; GUPTA, S.; ARORA, C. C.; (2013). **Antimicrobial activity of medicinal plants against some pathogenic microbial strains.** International journal of phytomedicine: 5(2); 154-158
- BHAVANANI, S.M.; BALOW, C.H.; (1992). **New agents for Gram-positive bacteria.** *Curr. Opin. Microbiol,* 13, 528–534.
- BURT, S. (2004). **Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review.** *Int. J. Food Microbiol,* 94, 223–253.
- DALIA, I.H; AMAL, A.; ASSEM, M.; EL-SHAZL (2016). **Chemical composition and cytotoxic activity of the essential oils of *Schinus molle* growing in Egypt** *J. Pharm. Sci& Res. Vol. 8(8),* 779 – 793.
- EL HAYOUNI, E.A, CHRAIEF I, ABEDRABBA M.; BOUIX M.; LEVEAU JY.; HAMMAMI M.; HAMDI, M.; (2008). **Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat:** *International Journal of Food Microbiology;* 125:242–51.
- GUPTA, V.K. and SHARMA, S.K. (2010). **In vitro Antioxidant Activities of Aqueous Extract of *Ficus Bangalensis* Linn. Root.** *International Journal of Biological Chemistry,* 4: 134-140.
- JAMEELA, M; MOHIDEEN, A.; SUNITHA, K.; and NARAYANAN, M.; (2011). **Antibacterial Activities of Three Medicinal Plants Extract against Fish Pathogens.** *International Journal of Biological Technology;* Vol.2(2):57-60.
- KASMI, A.; HAMMAMI, M.; ABDERRABBA, M.; AYADI, S.; (2016). ***Schinus molle*: Chemical analysis, phenolic compounds and evaluation of its antioxidant activity.** *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research,* 8(5):93-10.
- LISIN, G.; SAFIYEV, S.; CRAKER, L.E. (1999). **Antimicrobial activity of some essential oils.** *Acta Hortic. (ISHS),* 501, 283–288.
- LJALEM HADUSH ABRHA and UNNITHAN C.R.; (2014). **Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Schinus molle*.** *Unique Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences,* 02(01); Page 9-12
- MARONGIU, B; PORCEDDA, A.P.S.; CASU, R; PIERUCCI, P. (2004). **Chemical composition of the oil and supercritical CO₂ extract of *Schinus molle* L:** *Flavour and Fragrance Journal;* 19:554–558.
- MEHANI, M.; SEGNI, L. (2013). **Antimicrobial Effect of Essential Oil of Plant *Schinus molle* on Some Bacteria Pathogens.** *International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering Vol: 7, No: 12*
- PAREKH, J. and CHANDA, S. (2006). **Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants.** *African Journal*

of Biomedical Research, Vol. 10: 175 – 181

PAULO STEIDER DOLESKIMUHD; CAMILA HELENA FERREIRA CUELHO; JULIANA CALIL BRONDANI; MELÂNIA PALERMO MANFRON. (2015). **Chemical composition of the Schinusmolle L. essential oil and their biological activities.** RevistaCubana de Farmacia;49(1):132-143

PEDRO M DE MENDONÇA ROCHA; JESUS M. RODILLA; DAVID DÍEZ; HERIBERTO ELDER; MARIA SILVIA GUALA; LÚCIA A. SILVA and EUNICE BALTAZAR POMBO. (2012). **Synergistic Antibacterial Activity of the Essential Oil of Aguaribay (Schinusmolle L.)** Molecules.

RHOUMA A.; BEN DAOUD H.; GHANMI S.; BEN SALAH H.; ROMDHANE M.; DEMAK M. (2009). **Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Pistacia and Schinus Species Against Some Plant Pathogenic Fungi and Bacteria.** Journal of Plant Pathology. 91:339-345

SAMY, R.P. (2005). **Antimicrobial activity of some medicinal plants from India.** Fitoterapia; 76: 697-99.

Original article

PRELIMINARY OBSERVATIONS OF PLASTIC DEBRIS IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF SEA URCHIN TETRAPYGUS NIGER

Authors: Gabriel Enrique De-la-Torre^{1,A}, Diana Carolina Diones-Salinas¹, Sandra Huamantupa-Aybar¹, Joseph Davila-Carrasco¹

¹Universidad San Ignacio de Loyola, Lima, Perú.

Article ID

Keywords:
echinoderm, Peru,
nanoplastic

Abstract

Plastic pollution is regarded as one of the major issues from the Anthropocene epoch. Microplastics (<5 mm) are the result of the excessive plastic production and littering, thus becoming widespread in the environment. In this study, the presence and characteristics of microplastics extracted from the gastrointestinal tract of sea urchin *Tetrapygus niger* was reported. An average abundance of 3.22 ± 0.49 microplastics per individual was found, ranging from 1 to 5. Fibers were the dominant type (75.9%), followed by fragments (24.1%). Regarding color, most of the particles found were blue > red > black > green. These results are in lower magnitude levels than those reported in others species from the same region. However, microplastics could transfer from sea urchins to predators in higher trophic levels, like marine mammals. Prospects for further research was discussed.

Introduction

Microplastics (MPs) are plastic particles smaller than 5 mm in diameter (1,2). These particle have been evidenced around the world, reaching marine (3), terrestrial (4), freshwater environments (5) and even remote areas (6). Thus, MP pollution has been regarded as ubiquitous and widespread globally. MPs are classified as primary or secondary. While primary MPs are manufactured micro-sized (e.g., face scrubs and production pellets), secondary MPs derive

from the break down of larger plastics under certain environmental conditions (1).

Marine species from any trophic level may be subject to MP ingestion due to its small size (7). Upon ingestion, MPs could potentially biomagnify along the food web and reach apex predators (8). MP uptake threatens marine biota due to the adhered contaminants and leaching additives under weathering conditions (9) by causing ecotoxicological effects at a biomarker level (10). Filter feeding organisms are expected to perceive a higher exposure. However, research shows

*Corresponding author:

Gabriel Enrique De-la-Torre: e-mail: Gabriel.e.dltp@gmail.com - <https://orcid.org/0000-0002-0268-2784>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.94> - Article received on May 14 , 2020; Accepted on May 22, 2020; published on 23 July 2020 in the Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.2, online, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. All authors contributed equally to the article. The authors declare that there is no conflict of interest. This is an open access article under the CC - BY license: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.

that marine grazers, like gastropods, could retain MPs ingested from contaminated seaweed (11,12).

Sea urchins feed by rasping on top of their feeding substrate with calcitic teeth, leaving scratches while grazing for endolithic photosynthetic organisms (13). In the sea urchin *Paracentrotus lividus*, this behavior have shown to cause a bioerosion of larger plastics into MPs (14). Since marine litter is mainly composed of plastic items (15), benthic marine grazers with specific feeding ecology could play role in the release of secondary MPs to the environment. In spite of this, information regarding the presence of MPs in sea urchins from the environment is limited compared to other benthic macroinvertebrates (e.g., bivalves).

In Peru, some studies have studied the presence of MPs in marine environments (3,16,17), and two assessing invertebrates (18,19). Here, the abundance and characteristics of MPs extracted from the gastrointestinal tract of sea urchin *Tetrapygus niger* were reported.

Materials and Methods

Study area and sample collection

In February of 2020, *T. niger* samples (n = 9) were collected from a recreational sandy beach (12°58'56.7"S 76°30'14.1"W) located in Cañete Province, Lima Region, Peru. The specimens were carefully detached from intertidal rocks during low

tide. Then, samples were stored and transported to the laboratory in precleaned sealed glass containers with ice. In the laboratory, the sea urchins were stored at -20 °C until further analysis.

Microplastic extraction and identification

The specimens were thawed prior analysis. The MP extraction procedure from the soft tissues was described elsewhere (17) (Fig. 1). In brief, a clean cut was made along the circumference of the sea urchin using clean sharp scissors and the gastrointestinal tract was extracted by cutting from the esophagus (not including the Aristotle's lantern) to the rectum. The tissues were weighted and placed in a screw cap test tube filled with 10% (w/v) KOH for tissue digestion. The tubes were then shaken manually and incubated at 60°C overnight. The whole digestate was vacuum filtrated through a Whatman 41 filter paper. The filters were placed in closed petri dishes. Filters were scanned using a stereomicroscope. MPs larger than 100 µm were identified based on their morphology and characteristics and classified into fibers, fragments, films and microbeads. The color of the MPs was also recorded.

Since identifying the polymer type of the MPs is generally a mandatory procedure (20,21), the results from this study are regarded as preliminary. Herein, MPs are referred to "suspected microplastics".

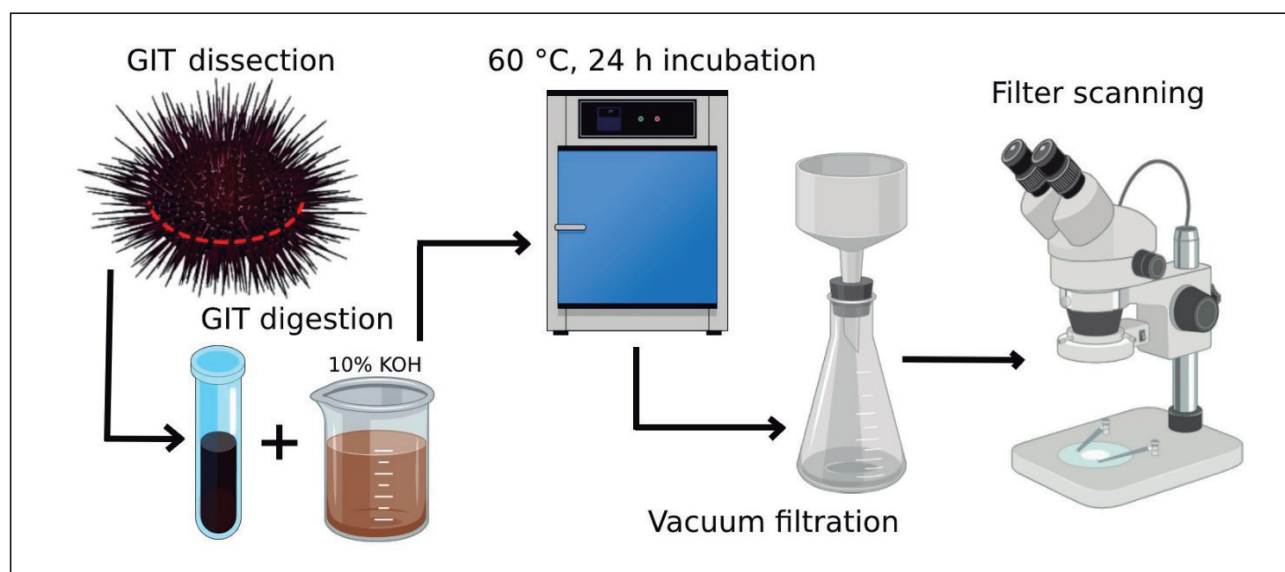


Fig. 1. Procedural steps for MP extraction and identification from the gastrointestinal tract of sea urchins.

Quality control

Quality control measures followed the ones described as mandatory by Dioses-Salinas *et al.* (4). In general terms, lab coats and polymer free gloves were worn at all times. Plastic materials were avoided and metal and glass wear were preferred. All the surfaces were wiped clean with distilled water, samples and reagents were covered when not in use. Liquids were prefiltered using the glass filtration apparatus' sand core plate.

An airborne blank was conducted by placing a wet filter on the work surface for as long as the batch treatment lasted. Also, a 10% KOH blank was prepared by filtering the same amount of reagent used in the samples. Upon inspection, no fibres or

suspicious particles were found in the blanks. Thus, quality control measured deemed sufficient.

Results

MP particles were observed in all of the sea urchins. A total of 29 MPs were observed. Mean MP concentration was 3.22 ± 0.49 MP per individual (MP/ind. \pm SEM) and 0.07 ± 0.01 MP per gram of wet weight (MP/g \pm SEM). Individual occurrence ranged from 1 to 5 MPs per individual. Regarding morphology, films and microbeads were not found. The majority of the MPs were fibres (75.9%), followed by fragments (24.1%). Blue colored particles were the most abundant, followed by red, black and green (Fig. 2).

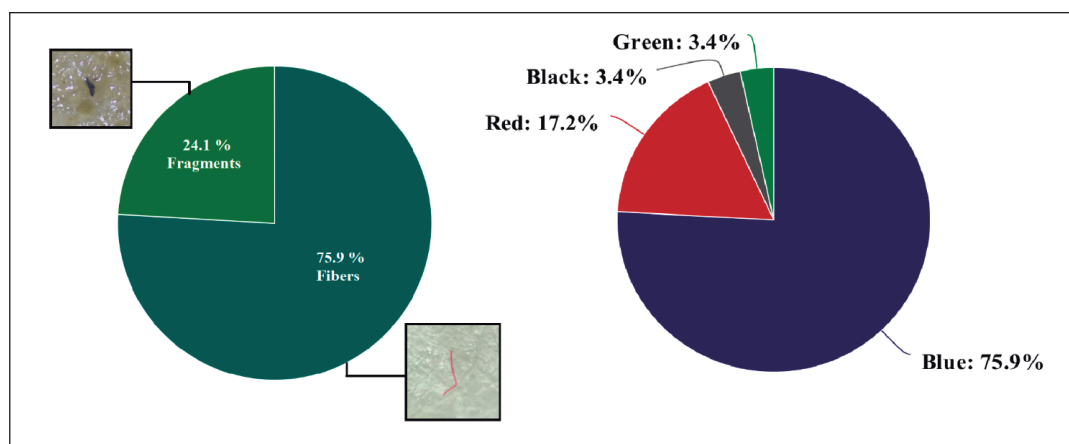


Fig. 2. Charts showing the percentage of MP morphotypes and color.

Discussions

A general low prevalence of MPs is reported in *T. niger* when compared to fish and bivalves from the Lima Region reported in previous research (17,19). MP intake by sea urchins are likely to be directly influenced by their foraging activity. Studies with periwinkles demonstrated macrophytes to be a viable vector for MPs (11,12). However, the likeliness of MPs to attach to biofilm surfaces in intertidal rocks used as foraging grounds for benthic invertebrates are unknown.

The dominance of fiber particles in marine species is commonly reported in literature (17,19,22,23). Importantly, Perez-Venegas (24) evidenced Otariids from the Peruvian and Chilean coast to have ingested mainly fibers. This indicates that MPs may pass from

prey to predator, scaling to higher trophic levels. Although the information regarding the presence of MPs in superficial waters is lacking in Peru, publications on marine sediment reported little to no fibres in their samples (3,16). This may be due to the smallest particles being overlooked, as these studies aimed for the “larger” MPs ranging from 1 to 5 mm.

Various ecotoxicological studies have demonstrated that MPs can cause ill effects on sea urchins at early stages of development (25–28). For instance, in *Lytechinus variegatus*, production pellets cause anomalous development of embryos (27), while polystyrene and polymethyl methacrylate microplastics induced a decrease in fertilization success in *Sphaerechinus granularis* and caused transmissible damage (28). Indeed, the bioavailability of MPs may pose a threat to the development and

survival of sea urchin populations.

Here, a preliminary assessment was carried out reporting the presence of MPs in sea urchins from the coast of a sandy beach in Peru. This is the first known study to evidence such particles in echinoderms from this region. A general low prevalence was observed, although the MP morphologies are similar to those reported in literature. Further studies must focus on tracking the sources of MPs in the Peruvian coastline, intake mechanics based on feeding ecology and MP assessment at various trophic levels.

Acknowledgements

The authors are thankful to Prof. Sandra Casimiro for allowing the present research to be conducted in the research laboratory facilities of Universidad San Ignacio de Loyola and supplying with the necessary equipment.

References

1. Cole M, Lindeque P, Halsband C, Galloway TS. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2011;62(12):2588–97. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>
2. Andrady AL. Microplastics in the marine environment. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2011;62(8):1596–605. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
3. De-la-Torre GE, Dioses-Salinas DC, Castro JM, Antay R, Fernández NY, Espinoza-Morriberón D, et al. Abundance and distribution of microplastics on sandy beaches of Lima, Peru. *Mar Pollut Bull*. 2020 Feb 1;151:110877.
4. Dioses-Salinas DC, Pizarro-Ortega CI, De-la-Torre GE. A methodological approach of the current literature on microplastic contamination in terrestrial environments: Current knowledge and baseline considerations. *Sci Total Environ* [Internet]. 2020 Aug 15 [cited 2020 May 11];730:139164. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969720326814>
5. Grbić J, Helm P, Athey S, Rochman CM. Microplastics entering northwestern Lake Ontario are diverse and linked to urban sources. *Water Res* [Internet]. 2020;174:115623. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115623>
6. Bergmann M, Wirzberger V, Krumpfen T, Lorenz C, Primpke S, Tekman MB, et al. High Quantities of Microplastic in Arctic Deep-Sea Sediments from the HAUSGARTEN Observatory. *Environ Sci Technol*. 2017 Oct 3;51(19):11000–10.
7. De-la-Torre GE. Microplastics: an emerging threat to food security and human health. *J Food Sci Technol*. 2020 May 1;57(5):1601–8.
8. Nelms SE, Galloway TS, Godley BJ, Jarvis DS, Lindeque PK. Investigating microplastic trophic transfer in marine top predators. *Environ Pollut*. 2018 Jul 1;238:999–1007.
9. Fred-Ahmadu OH, Bhagwat G, Oluyoye I, Benson NU, Ayejuyo OO, Palanisami T. Interaction of chemical contaminants with microplastics: Principles and perspectives. *Sci Total Environ*. 2020 Mar 1;706:135978.
10. Dioses-Salinas DC, Pérez-Baca B, De-la-Torre GE. Ecotoxicological effects of microplastics and adsorbed contaminants on aquatic organisms. *Manglar*. 2019 Dec 31;16(2):173–82.
11. Gutow L, Bartl K, Saborowski R, Beermann J. Gastropod pedal mucus retains microplastics and promotes the uptake of particles by marine periwinkles. *Environ Pollut*. 2019 Mar 1;246:688–96.
12. Gutow L, Eckerlebe A, Giménez L, Saborowski R. Experimental Evaluation of Seaweeds as a Vector for Microplastics into Marine Food Webs. *Environ Sci Technol*. 2016 Jan 19;50(2):915–23.
13. F Boudouresque C, Verlaque M. Chapter 13 Ecology of *Paracentrotus lividus*. In: *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*. Elsevier; 2007. p. 243–85.
14. Porter A, Smith KE, Lewis C. The sea urchin *Paracentrotus lividus* as a bioeroder of plastic. *Sci Total Environ*. 2019 Nov 25;693:133621.
15. De-la-Torre G, Laura RP. Composition, physical characteristics and per capita generation of solid waste at Las Sombrillas beach, Lima. *Manglar*. 2019 Jun 28;16(1):39–44.
16. Purca S, Henostroza A. Presencia de microplásticos en cuatro playas arenosas de Per. *Rev Peru Biol*. 2017;24(1):101–6.
17. De-la-Torre GE, Dioses-Salinas DC, Pérez-Baca BL, Santillán L. Microplastic abundance in three commercial fish from the coast of Lima, Peru. *Brazilian J Nat Sci* [Internet]. 2019;2(3):171–7. Available from: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.67>
18. De-la-Torre G, Mendoza-Castilla L, Laura

- RP. Microplastic contamination in market bivalve *Argopecten purpuratus* from Lima, Peru. *Manglar*. 2019 Dec 31;16(2):85–9.
19. Valencia-Velasco F, Guabloche-Zuñiga A, Alvarino L, Iannacone J. Estandarización de un protocolo para evaluar microplásticos en bivalvos marinos en el Departamento de Lima, Perú. *Biol*. 2020 May 2;18(1).
20. De-la-Torre G. Microplásticos en el medio marino: Una problemática que aborda. *Rev Cienc Y Tecnol*. 2019 Dec 26;15(1):9–15.
21. Dehaut A, Hermabessiere L, Duflos G. Current frontiers and recommendations for the study of microplastics in seafood. *TrAC - Trends Anal Chem*. 2019 Jul 1;116:346–59.
22. Li J, Qu X, Su L, Zhang W, Yang D, Kollandhasamy P, et al. Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environ Pollut*. 2016 Jul 1;214:177–84.
23. Naji A, Nuri M, Vethaak AD. Microplastics contamination in molluscs from the northern part of the Persian Gulf. *Environ Pollut*. 2018 Apr 1;235:113–20.
24. Perez-Venegas DJ, Toro-Valdivieso C, Ayala F, Brito B, Iturra L, Arriagada M, et al. Monitoring the occurrence of microplastic ingestion in Otariids along the Peruvian and Chilean coasts. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2020;153(August 2019):110966. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110966>
25. Messinetti S, Mercurio S, Parolini M, Sugni M, Pennati R. Effects of polystyrene microplastics on early stages of two marine invertebrates with different feeding strategies. *Environ Pollut*. 2018 Jun 1;237:1080–7.
26. Della Torre C, Bergami E, Salvati A, Faleri C, Cirino P, Dawson KA, et al. Accumulation and embryotoxicity of polystyrene nanoparticles at early stage of development of sea urchin embryos *Paracentrotus lividus*. *Environ Sci Technol*. 2014 Oct 21;48(20):12302–11.
27. Nobre CR, Santana MFM, Maluf A, Cortez FS, Cesar A, Pereira CDS, et al. Assessment of microplastic toxicity to embryonic development of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). *Mar Pollut Bull*. 2015 Mar 15;92(1–2):99–104.
28. Trifuoggi M, Pagano G, Oral R, Pavičić-Hamer D, Burić P, Kovačić I, et al. Microplastic-induced damage in early embryonal development of sea urchin *Sphaerechinus granularis*. *Environ Res*. 2019 Dec 1;179:108815.

Artigo Original

APLICAÇÃO DA FERRAMENTA FMEA PARA ANÁLISE DE NOTIFICAÇÕES DE QUEIXAS TÉCNICAS DE MEDICAMENTOS SÓLIDOS NO CONTEXTO DE QUALITY BY DESIGN

Autores: Caroline Bicouv¹; Luiza Novaes Alves Pereira¹; Leandro Giorgetti^{2,A}

¹Acadêmica do curso de farmácia da Universidade Anhembi Morumbi – São Paulo – Brasil.

²Docente da Universidade Anhembi Morumbi – São Paulo – Brasil.

Informações do artigo

Palavras Chave:
Quality by Design;
controle de qualidade;
formas farmacêuticas
sólidas

Resumo

O controle de qualidade em indústrias farmacêuticas tem sido aprimorado de maneira gradual com a implementação de novas estratégias e tecnologias, de modo a possibilitar a obtenção de produtos cada vez mais eficazes e seguros. Com surgimento do conceito de Quality by Design (QbD), a produção de medicamentos passou a ser otimizada por meio da delimitação dos parâmetros de qualidade dos produtos desde os estágios iniciais de desenvolvimento e planejamento da formulação a partir das características do insumo farmacêutico ativo, visando a prevenção de defeitos e melhoria contínua da cadeia produtiva. Sendo assim, o presente estudo constitui uma análise quantitativa de notificações de irregularidades em medicamentos sólidos publicadas no site oficial da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) durante o período de 2017 a 2019, a partir do uso da metodologia de Análise de Modos de Falhas e Efeitos (FMEA) no contexto de QbD. Ao todo, foram analisadas 421 notificações de produtos farmacêuticos irregulares, das quais 28,5% correspondiam a queixas técnicas, sendo 60,0% delas referentes a medicamentos sólidos. Após a avaliação dos dados, verificou-se que aproximadamente 80,0% das não-conformidades encontradas estavam relacionadas a aspecto, dissolução, embalagem, doseamento e pureza, sendo o QbD uma estratégia eficiente para o gerenciamento dos riscos relacionados à produção, visando a redução de custos e implementação de estratégias que possibilitem a diminuição gradativa do número de queixas técnicas destes produtos.

^AAutor correspondente

Professor Orientador Leandro Giorgetti – E-mail: lggiorgetti@anhembi.br – ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2776-2286>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.104> - Artigo recebido em: 10 de julho 2020 ; aceito em 17 de julho de 2020 ; publicado em 23 de julho de 2020 no Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.2, julho 2020. Online, ISSN: 2595-0584 – www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:

Quality by Design; quality control; solid dosage forms

Abstract

The quality control in pharmaceutical industries has been gradually improved with the implementation of new strategies and technologies, in order to make it possible to obtain increasingly effective and safe products. With the advent of the Quality by Design (QbD) concept, the production of medicines started to be optimized by delimiting the quality parameters of the products from the initial stages of development and formulation planning based on the characteristics of the active pharmaceutical ingredient, aiming defect prevention and continuous improvement of the production chain. Therefore, the present study constitutes a quantitative analysis of notifications of irregularities in solid medicines published on the National Health Surveillance Agency (ANVISA) official website during the period from 2017 to 2019, using the Failure Mode Analysis and Effects (FMEA) methodology in QbD context. Of the 421 notifications of irregular pharmaceutical products analyzed, 28.5% corresponded to technical complaints and, of this total, 60.0% were related to solid medicines. After evaluating the data, it was found that approximately 80.0% of the non-conformities found were related to aspect, dissolution, packaging, dosing and purity. Thus, it can be inferred that the QbD is an efficient strategy for the management of risks related to production, aiming at cost reduction and implementation of strategies that allow the gradual reduction in the number of technical complaints of these products.

Introdução

De acordo com um relatório do Sistema Mundial de Vigilância e Monitorização da Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que, em países subdesenvolvidos, cerca de um em cada dez medicamentos comercializados não apresenta padrões de qualidade aceitáveis, seja por irregularidades relacionadas à falsificação de produtos ou ocasionadas por erros de fabricação (1).

Com a expansão da indústria farmacêutica e ampliação da produção de medicamentos, novos produtos são constantemente disponibilizados no mercado. As formas farmacêuticas sólidas se destacam em relação às demais por apresentarem vantagens significativas, como facilidade de administração e transporte, maior tempo de validade e boa estabilidade físico-química (2).

Paralelamente, houve a necessidade de aumentar o monitoramento da qualidade desses produtos, fazendo com que as indústrias farmacêuticas passassem a investir na implementação de novas estratégias e tecnologias que visam a obtenção de produtos cada vez

mais eficazes e seguros. Uma das principais formas de monitoramento na fase pós-comercialização é através da notificação de queixas técnicas, que podem ser definidas como qualquer irregularidade relacionada a aspectos técnicos ou legais, capaz ou não de causar algum dano à saúde individual e coletiva (3)21.0% ineffective therapy and 9.0% adverse reaction to medication. The pharmacological groups with highest number of reports were: drugs that act on alimentary tract and metabolism (25.1%).

O controle de qualidade deve ser enquadrado como um elemento-chave de qualquer processo industrial para conferir credibilidade aos produtos e estabilidade às empresas no respectivo setor de atuação. Com o surgimento da era da gestão da qualidade total a partir de 1980 (**Figura 1**), o foco das indústrias passou a ser no controle de variáveis que podem afetar a qualidade desejada para os produtos desde a fase de planejamento, por meio de estratégias pautadas principalmente no conceito de QbD (4,5) despite some impressive success stories, the pharmaceutical industry have not yet fully embraced QbD, particularly in routine commercial

manufacturing (Rantanen and Khinast, 2015; Puñal Peces et al., 2016).

Figura 1: Principais elementos da gestão da qualidade total



Figura1. Elaborada pelos autores

Segundo Nadpara *et al.* (6), o QbD constitui uma abordagem moderna para produtos farmacêuticos que fornece um direcionamento para que as indústrias aprimorem seus processos de fabricação, por meio da otimização de sistemas operacionais e gerenciamento dos riscos relacionados à produção.

No entanto, o principal desafio a ser enfrentado é a identificação de todos os potenciais pontos de falhas capazes de comprometer a qualidade dos produtos, uma vez que a maioria dos processos não possuem um padrão minuciosamente delimitado. Diante deste contexto, o uso de ferramentas de qualidade se torna uma importante alternativa para auxiliar em tomadas de decisão envolvendo o direcionamento de recursos para práticas de melhoria contínua em etapas consideradas mais críticas (7,8).

Tendo em vista a amplitude da bibliografia disponível para pesquisa a respeito de gestão de riscos em processos industriais, a metodologia FMEA foi a ferramenta mais adequada para este estudo, uma vez que permite a identificação das irregularidades que representam maiores riscos, possibilitando o planejamento de ações corretivas e preventivas capazes de diminuir a ocorrência de não-conformidades (9,10).

Neste sentido, o objetivo do trabalho foi avaliar quantitativamente notificações de medicamentos sólidos irregulares publicadas pela ANVISA durante o período de janeiro de 2017 a dezembro de 2019, a

partir do uso da ferramenta FMEA dentro do contexto de QbD.

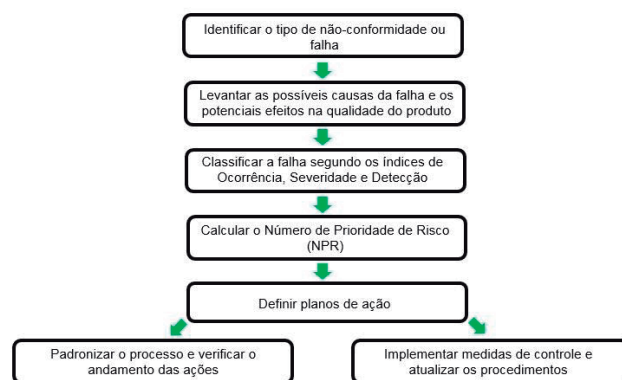
Materiais e Método

O presente estudo foi realizado por meio de um levantamento de dados de notificações de queixas técnicas de medicamentos sólidos publicadas na forma de Resoluções Específicas (RE) na área de “Produtos Irregulares” do site oficial da ANVISA (11), durante o período de janeiro de 2017 a dezembro de 2019.

Após uma busca sistemática, realizou-se a coleta das notificações de acordo com a forma farmacêutica e o tipo de irregularidade apresentada pelos produtos. Foram considerados dados relacionados a problemas farmacotécnicos, contaminação, descumprimento de normas gerais de fabricação e não-conformidades em embalagens, para posterior subdivisão em 12 categorias (**Tabela 1**)

Logo após, os números de notificações foram contabilizados separadamente de acordo com as respectivas categorias e procedeu-se às etapas subsequentes de aplicação da ferramenta (**Figura 2**).

Figura 2: Etapas de aplicação da ferramenta FMEA para análise de não conformidades em formulações sólidas entre janeiro de 2017 e dezembro de 2019



Fonte: Adaptado de Saxer (10).

Na classificação de ocorrência (**Tabela 2**), o principal critério adotado foi a frequência em que uma dada falha se repetiu durante do período estudado. Já o índice de severidade foi definido de acordo com as possíveis consequências que a falha pode trazer, sendo assim, o principal critério adotado foi a gravidade dos efeitos, considerando aspectos como riscos à saúde dos usuários, comprometimento da eficácia e perda da

credibilidade do produto. Por fim, a escala de detecção foi estabelecida a partir da probabilidade de se evitar a falha, desta forma, quanto menor a quantidade de controles pré-existentes, maior o valor atribuído, uma vez que haverá um aumento do risco de um produto não-conforme chegar ao cliente (9,10).

Tabela 1: Categorização das notificações de queixas técnicas de medicamentos

CATEGORIA	IRREGULARIDADES INCLUSAS
Aspecto	- Alteração de características organolépticas (cor, sabor, odor e textura).
Contaminação microbiológica	- Contagem de microrganismos acima da especificação ou presença de pirogênio.
Contaminação por substância ativa	- Presença de substâncias não descritas na formulação.
Descrição	- Divergências entre a descrição e o aspecto do produto.
Desintegração	- Reprovação no teste de desintegração.
Dissolução	- Reprovação no teste de dissolução.
Doseamento	- Teor de princípio ativo fora da especificação.
Embalagem	- Características do produto diferentes das constantes na embalagem original;
	- Ausência de informações em rótulos ou falhas na gravação dos dados dos produtos nas embalagens;
	- Embalagem do produto com material diferente do registrado;
	- Falta de conteúdo no frasco do produto ou problemas no envase.
Estabilidade	- Reprovação nos testes de estabilidade.
Formulação	- Presença de grumos ou irregularidades na superfície dos medicamentos.
Peso-médio	- Peso fora da especificação ou do limite de variação.
Pureza	- Presença de impurezas ou de formas polimorfas menos ativas;
	- Resultados fora da especificação para testes de substâncias correlatas;
	- Utilização de matéria-prima irregular ou proibida.

Tabela 1. Elaborada pelos autores

Tabela 2: Classificações de Ocorrência, Severidade e Detecção

ÍNDICE	OCORRÊNCIA		SEVERIDADE		DETECÇÃO	
	Classificação	Critério	Classificação	Critério	Classificação	Critério
1	Chance remota	1 vez a cada 3 anos	ND*	- sem efeitos na eficácia ou segurança do produto; - Falhas que não são notificadas pelo cliente, mas que configuram descumprimento de Boas Práticas de Fabricação.	Certamente a falha será detectada	Falha imediatamente detectada por controle automático ou ferramentas simples (ex. monitoramento do peso médio dos medicamentos de forma automática e contínua)
2	Frequência muito baixa	2 vezes a cada 3 anos	Bem leve	- Falhas que não causam riscos à saúde, mas são detectáveis (ex. cápsula faltando); - Falhas que indicam problemas de processo que afetam os produtos esporadicamente (ex. embalagem vazia).	Muito alta probabilidade de detecção	Falha evitada ou detectada por controle por amostragem (ex. análises de controle de qualidade)
3	Frequência baixa	3 vezes a cada 3 anos	Leve	- Falhas que não têm impacto direto na eficácia do produto, mas podem causar questionamento quanto à integridade ou estabilidade.	Alta probabilidade de detecção	Falha evitada ou detectada por controle visual/manual contínuo
4	Pouco frequente	4 vezes a cada 3 anos	Baixa	- Falha pode representar uma não-conformidade regulatória.	Chance moderada de detecção	Falha evitada ou detectada por controle visual/manual periódico (checagens aleatórias)

5	Frequência ocasional	5 vezes a cada 3 anos	Considerável	<ul style="list-style-type: none"> - Características organolépticas questionáveis (ex. cheiro desagradável, sabor atípico); - Desvios de qualidade visualmente perceptíveis que podem comprometer a eficácia do medicamento (ex. cápsulas abertas). 	Falha eventualmente detectada	Falha evitada ou detectada durante a execução de Procedimentos Operacionais Padrão
6	Frequência moderada	6 vezes a cada 3 anos	Moderada	<ul style="list-style-type: none"> - Falhas que são facilmente percebidas pelo cliente, prejudicando a quantidade de vendas do produto; - Perda de desempenho perceptível (ex. medicamento não faz efeito). 	Falha regularmente detectada	Falha pode ser detectada ou evitada, porém em situações específicas, como inspeções internas e auditorias
7	Frequente	7 vezes a cada 3 anos	Grave	<ul style="list-style-type: none"> - Informação ausente ou incorreta em folhetos, bulas ou rótulos; - Erros no rótulo (ex. prazo de validade incorreto); - Falha no fechamento das embalagens primária e/ou secundária. 	Baixa probabilidade de detecção	Falha evitada ou detectada por verificação pontual (não prevista em protocolo)
8	Frequência elevada	8 vezes a cada 3 anos	Muito grave	<ul style="list-style-type: none"> - Irregularidade de fabricação; - Falha pode causar recolhimento ou suspensão das vendas do medicamento. 	Probabilidade muito baixa de detecção	Falha pode ser evitada, porém não existe mecanismo definido para detecção

9	Frequência muito elevada	9 vezes a cada 3 anos	E. grave*	- Produto incorreto (incoerência entre rótulo e conteúdo); - Medicamento apresenta constituintes em concentrações diferentes das especificações da fórmula original, podendo causar sérias consequências clínicas.	Falha normalmente não identificada/não evitada	Falha sem qualquer controle técnico, manual ou visual que permita a detecção
10	Frequência máxima	10 vezes a cada 3 anos	Crítica	- A falha representa risco potencial de segurança ao paciente, de vida ou à saúde; - Contaminação microbiológica, química ou física, com possibilidade de consequências clínicas.	Falha quase inevitavelmente detectada	Falha negligenciada ou imperceptível

Tabela2. ND*= Não detectável; E. grave*= Extremamente Grave; Fonte: Adaptado de Stersi e Rito (9).

A partir da atribuição dos índices de ocorrência, severidade e detecção, o NPR foi calculado de acordo com a fórmula abaixo:

Número de Prioridade de Risco (NPR) = Ocorrência x Severidade x Detecção

O cálculo do NPR possibilita a avaliação dos níveis de criticidade das falhas e a definição de quais etapas do processo devem ser priorizadas. Para a determinação das falhas mais críticas, deve-se considerar que, se as escalas vão de 1 a 10, o valor máximo de NPR para uma falha que apresente simultaneamente índices máximos de O, S e D é igual a 1000. Sendo assim, para a obtenção de 90% de confiança estatística para o processo, 90% dos valores mais elevados de NPR

devem ser priorizados. Desta forma, todos os valores de NPR iguais ou acima de 100 devem ser classificados como críticos ou inaceitáveis (4,9).

Resultados e Discussão

No período de 2017 a 2019, ao todo foram publicadas 421 notificações de produtos farmacêuticos irregulares pela ANVISA, sendo 136 referentes ao ano de 2017, 108 ao ano de 2018 e 177 de 2019. Deste total, 120 (28,5%) estavam relacionadas a problemas farmacotécnicos, contaminação, descumprimento de normas gerais de fabricação e não-conformidades em embalagens. Destas notificações, 72 (60,0%) eram sobre medicamentos sólidos, tais como comprimidos, cápsulas, pós liofilizados, pós para suspensão e drágeas (**Tabela 3**).

Tabela 3: Quadro FMEA de notificações de formas farmacêuticas sólidas

Forma macéutica	Tipo de falha notificada	Nº de notificações	Possíveis causas da falha	Efeitos potenciais	O	S	D	NPR
Comprimido	Embalagem	10	- Materiais de embalagem fora das especificações; - Ausência de mecanismo de controle de rotulagem; - Falha nos mecanismos de fechamento de recipientes.	Ausência ou erro de informações que podem comprometer o tratamento	10	7	9	630
	Dissolução	10	- Falhas no desenvolvimento da formulação; - Presença de polimorfismo nas matérias-primas; - Falhas na qualificação de fornecedores de matérias-primas; - Processo pouco robusto.	Recolhimento ou suspensão das vendas do medicamento	10	8	2	160
	Aspecto	7	- Incompatibilidade entre fármaco e excipientes; - Problemas relacionados à estabilidade do produto; - Contaminação do produto.	Comprometimento da eficácia do produto e chance de não-adesão ao tratamento	7	5	3	105
	Doseamento	5	- Falhas nos equipamentos (ex. calibração ou manutenção); - Ausência de mecanismos de controle efetivos; - Falha na definição das especificações de teor do produto.	Risco de consequências clínicas decorrentes de subdose ou overdose	5	9	2	90
	Pureza	4	- Má qualidade das matérias-primas; - Uso de matérias-primas irregulares ou proibidas; - Ausência de mecanismos de controle efetivos.	Consequências clínicas decorrentes de ineficácia do produto	4	9	2	72
	Peso-médio	2	- Processo pouco robusto; - Ausência de mecanismos de controle efetivos; - Falhas nos equipamentos (ex. calibração ou manutenção).	Recolhimento ou suspensão das vendas do medicamento	2	8	2	32
	Descrição	4	- Não-conformidade regulatória; - Troca da fórmula-padrão ou de insumos durante a fabricação do produto; - Ausência de mecanismos de detecção efetivos.	Não causam risco à saúde, mas são facilmente detectáveis pelo cliente, podendo gerar reclamações	4	2	3	24

Cápsula	Embalagem	2	- Materiais de embalagem fora das especificações; - Ausência de mecanismo de controle de rotulagem; - Falha nos mecanismos de fechamento de recipientes.	Ausência ou erro de informações que podem comprometer o tratamento	2	7	9	126
	Pureza	2	- Má qualidade das matérias-primas; - Uso de matérias-primas irregulares ou proibidas; - Ausência de mecanismos de controle efetivos.	Recolhimento ou suspensão das vendas do medicamento	10	8	2	160
	Contaminação por substância ativa	1	- Falha na sanitização das linhas de produção; - Presença de contaminantes em matérias-primas; - Troca da fórmula-padrão ou de insumos durante a fabricação dos produtos.	Risco potencial de segurança ao paciente, com possibilidade de consequências clínicas	1	10	2	20
	Doseamento	1	- Falhas nos equipamentos (ex. calibração ou manutenção); - Ausência de mecanismos de controle efetivos; - Falha na definição das especificações de teor do produto.	Consequências clínicas decorrentes de subdose ou overdose	1	9	2	18
	Peso-médio	1	- Processo pouco robusto; - Ausência de mecanismos de controle efetivos; - Falhas nos equipamentos (ex. calibração ou manutenção).	Recolhimento ou suspensão das vendas do medicamento	1	8	2	16
	Desintegração	1	- Falhas no desenvolvimento da formulação; - Má qualidade das matérias-primas; - Falhas na qualificação de fornecedores de matérias-primas; - Ausência de mecanismos de controle efetivos.	Perda de desempenho (redução do efeito farmacológico)	1	6	2	12
Pó liofilizado	Embalagem	4	- Materiais de embalagem fora das especificações; - Ausência de mecanismo de controle de rotulagem; - Falha nos mecanismos de fechamento de recipientes.	Ausência ou erro de informações que podem comprometer o tratamento	4	7	9	252

	Contaminação microbiológica	4	<ul style="list-style-type: none"> - Alta atividade de água na formulação devido à falha no processo de liofilização; - Matérias-primas de má qualidade; - Condições ambientais não-controladas durante a produção; - Falha nos mecanismos de fechamento de recipientes; - Falha na sanitização das linhas de produção; - Paramentação inadequada dos colaboradores. 	Risco potencial de segurança ao paciente, com possibilidade de consequências clínicas	4	10	2	80
	Aspecto	5	<ul style="list-style-type: none"> - Incompatibilidade entre fármaco e excipientes; - Problemas relacionados à estabilidade do produto; - Contaminação do produto. 	Comprometimento da eficácia do produto e chance de não-adesão ao tratamento	5	5	3	75
	Doseamento	1	<ul style="list-style-type: none"> - Falhas nos equipamentos (ex. calibração ou manutenção); - Ausência de mecanismos de controle efetivos; - Falha na definição das especificações de teor do produto. 	Consequências clínicas decorrentes de subdose ou overdose	1	9	2	18
Pó para suspensão	Embalagem	2	<ul style="list-style-type: none"> - Materiais de embalagem fora das especificações; - Ausência de mecanismo de controle de rotulagem; - Falha nos mecanismos de fechamento de recipientes. 	Ausência ou erro de informações que podem comprometer o tratamento	2	7	9	126
	Formulação	2	<ul style="list-style-type: none"> - Problemas de estabilidade; - Qualidade da matéria-prima; - Ausência de estudo sobre as características físico-químicas do fármaco. 	Recolhimento ou suspensão das vendas do medicamento	2	8	3	48
	Aspecto	2	<ul style="list-style-type: none"> - Incompatibilidade entre fármaco e excipientes; - Problemas relacionados à estabilidade do produto; - Contaminação do produto. 	Comprometimento da eficácia do produto e chance de não-adesão ao tratamento	2	5	3	30

Drágea	Embalagem	1	- Materiais de embalagem fora das especificações; - Ausência de mecanismos de controle de rotulagem; - Falha nos mecanismos de fechamento de recipientes.	Ausência ou erro de informações que podem comprometer o tratamento	1	7	9	63
	Estabilidade	1	- Ausência de estudos sobre as características físico-químicas do fármaco; - Condições ambientais inadequadas durante a fabricação, armazenamento e transporte.	Perda de desempenho (redução do efeito farmacológico), podendo prejudicar a venda do produto	1	6	2	12

Tabela 3. Elaborada pelos autores

De acordo com o levantamento, as formas farmacêuticas sólidas que apresentaram os maiores números de notificações foram os comprimidos (58,3%) e pós liofilizados (19,4%), conforme **Figura 3**.

Figura 3: Notificações de formas farmacêuticas sólidas de janeiro de 2017 a dezembro de 2019



Figura 3. Elabora pelos autores

De acordo com Juliani (12), apesar de apresentarem algumas vantagens em relação a outras formas farmacêuticas, os comprimidos possuem desvantagens significativas, como limitação da quantidade de fármaco na preparação e dificuldade de ajuste da dose do medicamento final, que podem ser fatores determinantes para um maior número de notificações de irregularidades caso não sejam cuidadosamente formulados.

Já a forma farmacêutica que apresentou o menor

número de notificações foi a de drágea, com 2,8% do total. No entanto, pelo fato de o processo de drageamento demandar tempo e técnica, aumentar o tamanho do comprimido em cerca de 50% de peso/volume e possuir custo mais elevado, as drágeas estão sendo cada vez mais substituídas no mercado pelos comprimidos revestidos por filme, o que pode justificar o baixo número de notificações (12).

Das 72 notificações de medicamentos sólidos irregulares, aproximadamente 80% estavam relacionadas a aspecto, dissolução, embalagem, doseamento e pureza (Figura 4). Além disso, a partir da análise dos NPR obtidos, as irregularidades relacionadas aos três primeiros parâmetros foram classificadas como críticas, devido ao alto número de notificações e impacto significativo na qualidade dos produtos.

Figura 4: Categorias de irregularidades apresentadas por formas farmacêuticas sólidas entre janeiro de 2017 a dezembro de 2019

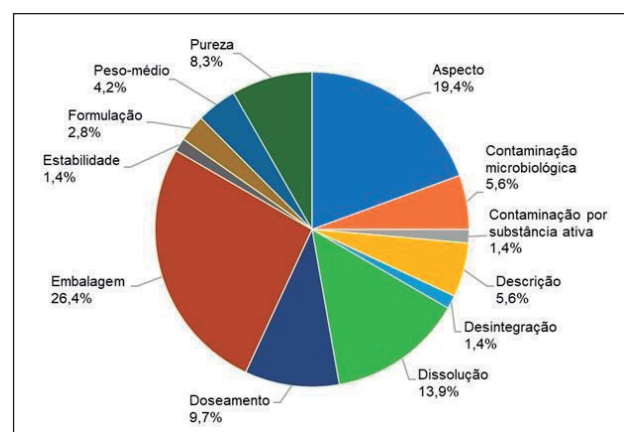


Figura 4. Elaborada pelos autores

Com relação a embalagens, a estratégia do Design Space, no contexto de QbD pode contribuir significativamente para a diminuição do número de notificações relacionadas à embalagem dos medicamentos. Nesse estudo, as ferramentas de delineamento experimental (DoE) levam a um conjunto de experimentos, cuja análise estatística pode apontar os principais fatores capazes de prejudicar a estabilidade do produto ou a função de acondicionamento, como dimensão, cor, flexibilidade, diagramação, formato e aspectos gráficos (5,13).

Ainda de acordo com o levantamento, outra não-conformidade relevante observada para comprimidos e pós foi o aspecto. Este parâmetro é importante para a credibilidade do produto, pois por meio das características organolépticas (como cor, odor, sabor e textura) é possível identificar a ocorrência de alterações físico-químicas, contaminações ou processos de degradação capazes de comprometer a estabilidade ou eficácia do medicamento, podendo representar riscos à segurança do paciente (14,15).

Propriedades químicas e biológicas como pureza, pKa, estabilidade fotolítica e oxidativa, coeficiente de partição e permeabilidade às membranas biológicas também devem ser consideradas, uma vez que influenciam diretamente na escolha dos adjuvantes da formulação e materiais de embalagem mais adequados para o acondicionamento do produto (5).

Segundo Andrade Jr. (16), outro estudo de suma importância para o desenvolvimento de medicamentos é o de compatibilidade fármaco-excipientes, realizado principalmente por meio de técnicas analíticas que empregam métodos térmicos, como calorimetria diferencial exploratória (DSC), análise térmica diferencial (TGA) e termogravimetria (TG), cujo principal objetivo é minimizar problemas relacionados a possíveis reações entre os insumos farmacêuticos ativos e os demais componentes da formulação, como perda da estabilidade e variabilidade de aspecto. Além disso, podem ser úteis para a maximização do prazo de validade do produto, aprimorar o entendimento sobre interações entre medicamentos e evitar desperdício de matérias-primas.

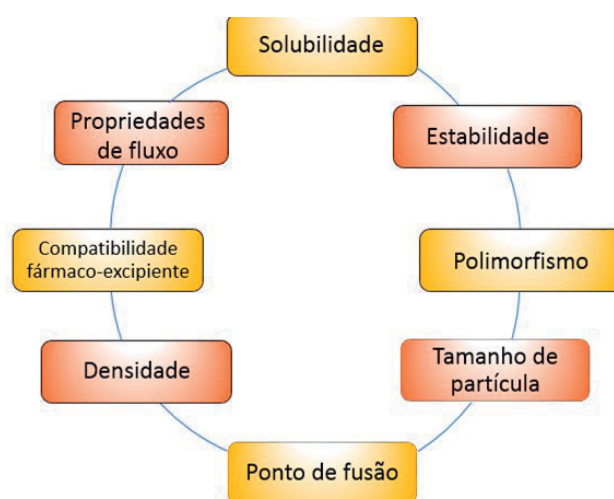
Além do aspecto, outros parâmetros diretamente ligados à performance dos medicamentos que apresentaram um número significativo de notificações foram desintegração, dissolução, peso-médio e doseamento. Os ensaios de desintegração e dissolução

estão diretamente ligados ao efeito terapêutico de um medicamento, uma vez que são etapas imprescindíveis para a biodisponibilidade do fármaco no organismo. Já os ensaios de peso-médio e doseamento, por estarem relacionados à uniformidade dos medicamentos são importantes para assegurar aspectos posológicos do produto (14).

Uma das principais estratégias do QbD para evitar não-conformidades relacionadas a esses parâmetros é a realização de estudos de pré-formulação, que consiste no desenvolvimento do produto a partir das características físico-químicas do fármaco e dos excipientes, considerando aspectos como desempenho clínico desejado, estabilidade, segurança e eficácia (16).

Nadpara e colaboradores (6) destacaram que os estudos de pré-formulação são importantes para o controle de qualidade de matérias-primas, uma vez que quanto maior a variabilidade das propriedades dos insumos utilizados no processo de fabricação, maior a chance de obtenção de um produto fora dos padrões desejados (Figura 5).

Figura 5: Principais estudos de pré-formulação



Fonte: Adaptado de Nadpara et al. (6)

Propriedades físicas como fluxo e densidade podem impactar diretamente em operações como compressão de comprimidos ou enchimento de cápsulas, resultando em não-conformidades relacionadas a peso-médio e aspecto, por exemplo. Além disso, dependendo da classificação biofarmacêutica do insumo farmacêutico ativo, as características de solubilidade entre diferentes polimorfos impactam

diretamente na dissolução e biodisponibilidade dos fármacos, sendo assim, os processos de síntese e quantificação de impurezas e produtos de degradação nas matérias-primas se tornam imprescindíveis para garantir a pureza adequada para a produção do medicamento (5,13).

O método analítico utilizado no controle de qualidade também pode influenciar a ocorrência de notificações de irregularidades, principalmente ao gerar resultados pouco confiáveis. Apesar de não-obrigatório até o momento, o conceito de QbD pode ser aplicado no contexto analítico para o desenvolvimento e validação de métodos (17). De acordo com o guia de qualidade ICH Q8 (R2) sobre Desenvolvimento Farmacêutico proposto pelo Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos de Uso Humano (18), a técnica de Analytical Quality by Design (AQbD), contrapõe o método tradicional de Quality by Testing (QbT), ao estabelecer as variáveis capazes de afetar o método analítico antes mesmo do início do desenvolvimento, permitindo métodos robustos, reprodutíveis e de maior confiabilidade. Desta forma, a aplicação do AQbD possui diversas vantagens e constitui uma abordagem eficaz para a diminuição de falhas no controle de qualidade que podem resultar em notificações de queixas técnicas.

Outros tipos de notificações em evidência foram de contaminação microbiológica ou por substâncias ativas. De acordo com a diretriz ICH Q7 sobre Boas Práticas de Fabricação (19), algumas formas de mitigação de contaminações durante a produção de medicamentos são a implementação de sistemas adequados de ventilação no ambiente de produção, seleção criteriosa dos conservantes das formulações, validação de processos de limpeza, medidas de controle de pragas e uso de equipamentos apropriados para controle da pressão do ar, microrganismos, poeira, umidade e temperatura.

Outra alternativa importante para a diminuição do número de produtos não-conformes é a implementação de mecanismos de controle de qualidade em tempo real, a partir dos quais parâmetros específicos são avaliados durante a produção do medicamento para facilitar a rastreabilidade de falhas, otimizar os processos e reduzir a quantidade de testes de liberação de lotes (6,15).

A implementação destes mecanismos pode ser feita por meio de ferramentas de Tecnologia Analítica

de Processos (PAT), como medições de controle e analisadores na linha de produção ou programas de monitoramento que realizem testes completos do produto em intervalos definidos, visando reduzir a variabilidade de insumos e equipamentos durante o processo de fabricação, otimizar o tempo do ciclo produtivo, gerar informações sobre os produtos em tempo real durante os testes de liberação e automatizar os processos para reduzir erros decorrentes de falhas humanas (8,13).

Conclusão

Por meio do uso da metodologia FMEA foi possível avaliar quantitativamente notificações de queixas técnicas de medicamentos sólidos, de acordo com a frequência, probabilidade de detecção e o impacto gerado pelas falhas, priorizando-as de acordo com o nível de criticidade. Além disso, pode-se concluir que as estratégias do QbD, uso de ferramentas baseadas em modelos matemáticos e mecanismos de controle em tempo real, podem contribuir significativamente para a diminuição de ocorrências de desvios de qualidade, rejeição de lotes de produtos, não-conformidades regulatórias e custos com investigações de reclamações de consumidor, por meio da incorporação de atributos de qualidade nos produtos desde o processo de desenvolvimento.

Referências

1. World Health Organization. Sistema Mundial de Vigilância e Monitorização da OMS para os produtos médicos de qualidade inferior e falsificados. 2018;73.
2. Allen Jr L V., Popovich NG, Ansel HC. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 2013;716.
3. Lima PF de, Cavassini ACM, Silva FAT, Kron MR, Gonçalves SF, Spadotto A, et al. Queixas técnicas e eventos adversos a medicamentos notificados em um hospital sentinela do interior de São Paulo, 2009-2010. *Epidemiol e Serviços Saúde*. 2013;22(4):679–86.
4. Grangeia HB, Silva C, Simões SP, Reis MS. Quality by design in pharmaceutical manufacturing: A systematic review of current status, challenges and future perspectives. *Eur J Pharm Biopharm* [Internet]. 2020;147:19–37. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.12.007>

5. Yu LX, Amidon G, Khan MA, Hoag SW, Polli J, Raju GK, et al. Understanding pharmaceutical quality by design. *AAPS J.* 2014;16(4):771–83.
6. Nadpara NP, Thumar R V., Kalola VN, Patel PB. Quality by design (QBD): A complete review. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2012;17(2):20–8.
7. Fahmy R, Kona R, Dandu R, Xie W, Claycamp G, Hoag SW. Quality by design I: Application of failure mode effect analysis (FMEA) and Plackett-Burman design of experiments in the identification of “main factors” in the formulation and process design space for roller-compacted ciprofloxacin hydrochloride immediate. *AAPS PharmSciTech.* 2012;13(4):1243–54.
8. Bezerra MP, Rodrigues LNC. Quality By Design (QbD) Como Ferramenta Para Otimização Dos Processos Farmacêuticos. *Infarma - Ciências Farm.* 2017;29(1):5.
9. Rito P, Stersi MA. Gestão de riscos à qualidade: manual prático para uso da ferramenta FMEA em processos farmacêuticos. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ Inst Tecnol em fármacos - FARMANGUINHOS. 2019;39.
10. Saxer P. Aplicação Da FMEA Para Análise De Riscos Na Qualidade Do Processo De Embalagens Em Uma Multinacional De Agroquímicos. 2015;84.
11. Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Produtos Irregulares. Brasília, DF: ANVISA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/produtos-irregulares#/>. Acesso em: 22 jun 2020.
12. Juliani CSR. Medicamentos: noções básicas, tipos e formas farmacêuticas. 2014;128.
13. Yu LX, Kopcha M. The future of pharmaceutical quality and the path to get there. *Int J Pharm [Internet].* 2017;528(1–2):354–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.06.039>
14. GIL ES. Controle Físico-Químico de Qualidade de Medicamentos. 2010;512.
15. Dias C. O papel do Quality by Design na cadeia de suprimentos desverticalizada e globalizada da indústria farmacêutica. 2017;336.
16. Douglas de Moraes Andrade Jr. Estudo de pré-formulação para o desenvolvimento de comprimidos simples de maleato de enalapril 20 mg. 2015;120.
17. Chaves JAP. Aplicação do princípio de Quality by Design no processo de desenvolvimento analítico de métodos indicativos de estabilidade. 2017;55.
18. ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Pharmaceutical Development Q8 (R2). ICH Harmon Guidel. 2009;8:28.
19. ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Good manufacturing practice guide for active pharmaceutical ingredients Q7. ICH Harmon Guidel. 2000;49.



UM SONHO, UMA EMPRESA
E MILHARES DE VIDAS!


World's Natural Fragrances
phytotechnologies
CULTIVO ORGÂNICO
FAZENDA
DAS LAVANDAS

Foto na Fazenda das Lavandas WNF

A WNF se orgulha dos 25 anos de dedicação ao desenvolvimento do óleo essencial como fundamento para transformações importantes ligadas ao consumo de produtos.

A ideia da vegetalização em produtos de consumo não é mais impalpável, a performance dos ativos naturais aumenta junto com o interesse científico, construindo opções mais verdes e sustentáveis.

O mundo ganha muito com a filosofia do natural. Ao longo dessa trajetória, pudemos contribuir em mais de 50 universidades e entidades de ensino, fomentando a ampliação do conhecimento e a atividade prática.

Apoiamos toda e qualquer iniciativa que venha contribuir para um mundo mais honesto, mais natural e mais aromático!

World's Natural Fragrances



@wnfocial

Artigo de Revisão

A IMPORTÂNCIA DA FOTOEDUCAÇÃO NA PREVENÇÃO DO CÂNCER DE PELE

Autores: Augusto César de Melo Almeida^{1,A}, Renato Santos de Oliveira Filho², Heitor Carvalho Gomes³, Guilherme Routh Peixoto⁴, Lydia Masako Ferreira⁵

¹Aluno do Curso de Mestrado Profissional em Ciência, Tecnologia e Gestão aplicadas à Regeneração Tecidual da Unifesp. ²Prof. Afiliado e Prof. Orientador do Curso de Mestrado Profissional em Ciência, Tecnologia e Gestão aplicadas à Regeneração Tecidual da Unifesp. ³Prof. Orientador do Curso de Mestrado Profissional em Ciência, Tecnologia e Gestão aplicadas à Regeneração Tecidual da Unifesp. ⁴Aluno de Iniciação Científica, Graduando em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo. ⁵Profa. Titular da Disciplina Cirurgia Plástica da Unifesp. Coordenadora do Programa Pós-graduação em Cirurgia Translacional da Unifesp. Pesquisadora CNPq 1A.

Informações do artigo

Palavras Chave:
neoplasia cutânea,
prevenção primária,
educação em saúde.

Resumo

O câncer de pele é a neoplasia mais frequente no Brasil e o principal agente causal é a radiação ultravioleta (UV) proveniente do sol. A recomendação mais aceita, para a prevenção, é a diminuição da exposição ao sol e o uso de protetores solares, tanto físicos quanto químicos. Com objetivo de reduzir a incidência da doença e demonstrar que a prevenção é mais econômica do que o tratamento, deve-se apresentar informações principalmente aos grupos de risco, para maior compreensão da magnitude do problema e estimulá-las através da fotoeducação como medida efetiva de prevenção, através do controle dos fatores de risco e estímulo aos fatores protetores. Foi realizado uma revisão não sistemática da literatura e consultadas as bases de dados PubMed, Lilacs, SciELO e *google* acadêmico, utilizando os seguintes descritores em português e inglês: Health Education, primary prevention, skin neoplasm. Os artigos selecionados foram aqueles que abordam com relevância o tema fotoeducação para prevenção ao câncer de pele. A revisão da literatura evidencia um importante problema de saúde pública, que se agrava com a falta de conhecimento e informação das pessoas. Portanto, nota-se a importância da fotoeducação ao público em geral e principalmente aos grupos de riscos para prevenção e detecção precoce do câncer de pele e consequente diminuição da morbimortalidade.

^AAutor correspondente:

Augusto César de Melo Almeida - E-mail: contato@draugustoalmeida.com.br - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1210-6198>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.95> - Artigo recebido em: 21 de maio 2020 ; aceito em 26 de maio de 2020 ; publicado em 23 de julho de 2020 no Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.2, julho 2020. Online, ISSN: 2595-0584 - www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:
Health Education,
primary prevention, skin
neoplasm.

Abstract

Skin cancer is the most common neoplasm in Brazil and ultraviolet radiation (UV) from the sun is the main causative agent. The most accepted recommendation for prevention is to reduce sun exposure and the use of sunscreens, physical and chemical. In order to reduce the disease incidence and demonstrate that prevention is more economical than treatment, information should be presented mainly to risk groups, for a better understanding of the magnitude of the problem and to stimulate them through photo education as an effective measure of prevention by controlling risk factors and encouraging protective factors. A non-systematic literature review was carried out and the PubMed, Lilacs, SciELO and *google* academic databases were consulted, using the following descriptors in portuguese and English: Educação em Saúde/Health Education; prevenção primária/primary prevention; neoplasia cutânea/skin neoplasm. The selected articles were those that relevantly address the topic of photo education to prevent skin cancer. The literature review highlights an important public health problem, which is aggravated by the lack of knowledge and information of people. Therefore, it is noted the importance of photoeducation to the general public and mainly to the risk groups for prevention and early detection of skin cancer and consequent decrease in morbidity and mortality.

Introdução

A pele é o maior órgão do corpo humano e o câncer de pele é a neoplasia mais frequente no Brasil, correspondendo a 30% de todos os tumores malignos registrados no país, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA a,b, 2018).

Dentre os tumores de pele, o tipo não-melanoma é o de maior incidência. O INCA estima, para cada ano do triênio 2020-2022, cerca de 176.930 novos casos. Os mais frequentes são o carcinoma basocelular (CBC) e o carcinoma espinocelular (CEC), com baixa mortalidade e alto percentual de cura, se forem detectados precocemente (INCA, 2020).

O melanoma cutâneo representa 3% das neoplasias malignas da pele, mas é considerado mais grave devido à alta possibilidade de metástase. O prognóstico desse tipo de câncer pode ser considerado bom, se detectado nos estádios iniciais. Para triênio 2020-2022, a estimativa é de 8.450 novos casos, para cada ano (INCA, 2020).

O grande número de casos de neoplasia de pele, possíveis mutilações e o alto custo do tratamento cirúrgico, além de outros tratamentos complementares nos casos avançados, como radioterapia e quimioterapia, tornam esse um problema importante

de saúde pública no país, com repercussão, tanto na esfera pública como na privada (ROCHA *et al.*, 2002).

O principal agente causal do câncer de pele é a radiação ultravioleta (UV) proveniente do sol, que danifica o ácido desoxirribonucleico das células da pele, exerce efeito supressor no sistema imune cutâneo (CASTILHO *et al.*, 2010).

Acredita-se que 90% dos cânceres da pele não melanomas e 65% dos melanomas possam ser atribuídos à exposição solar inadequada (POPIM *et al.*, 2008).

Um dos principais grupos de risco do câncer de pele não melanoma, são trabalhadores que desenvolvem suas atividades ao ar livre, com exposição solar crônica e cumulativa, como os agricultores, pescadores, garis, carteiros, marinheiros, trabalhadores da construção civil, guardas de trânsito, caminhoneiros, salva-vidas, atletas, agentes de saúde, entre outros (DIEPGEN *et al.*, 2012). As doses de radiação UV recebidas por esse grupo podem ser de seis a oito vezes maiores do que as recebidas por trabalhadores que exercem suas funções em ambientes fechados (SARAIYA *et al.*, 2004).

O envelhecimento da população tem sido reconhecido como um fenômeno global e muitos trabalhos sugerem que este fenômeno também

contribuiu para o aumento da incidência de neoplasias cutâneas. Explicado pelo aumento do tempo e número de pessoas sob os efeitos nocivos da exposição cumulativa aos raios UV (UMEZONO *et al.*, 2019).

Outros fatores de riscos que contribuem para a gênese das lesões de pele são fatores genéticos, história familiar de câncer, sistema imune debilitado por doenças ou uso de imunossuppressores. Destaca-se, ainda, para o melanoma, a presença de nevos atípicos e numerosos, considerados lesões pré-malignas (GALLAGHER *et al.*, 2006).

A recomendação mais aceita, em se tratando de prevenção do câncer de pele, é a diminuição da exposição ao sol e o uso de protetores solares, tanto físicos quanto químicos (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Além da prevenção, a conscientização da população para diagnóstico precoce traz benefícios e evita agravamento das lesões e mutilações com redução da morbimortalidade (CORTEZ *et al.*, 2016).

Com objetivo de reduzir a incidência da doença e demonstrar que a prevenção é mais econômica do que o tratamento, deve-se apresentar informações principalmente aos grupos de risco, para maior compreensão da magnitude do problema e estimulá-las a investirem na fotoeducação como medida efetiva de prevenção, através do controle dos fatores de risco e estímulo aos fatores protetores.

Material e Método

Estudo descritivo, que foram seguidos os princípios éticos da Declaração de Helsinki revisada em 2000 e da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Foi realizado uma revisão não sistemática da literatura e consultadas as bases de dados PubMed, Lilacs, SciELO e google acadêmico, utilizando os seguintes descritores em Ciência da Saúde (DeCS) em português e inglês: “Educação em saúde/Health Education”; “prevenção primária/primary prevention”; “neoplasia cutânea/skin neoplasm” utilizados de maneira combinada com o operador booleano “AND”.

A análise dos artigos seguiu os seguintes critérios de inclusão: artigos em inglês e português; textos originais com acesso online completo; estudo em humanos; publicados no período de janeiro de 2010 a março de 2020; estudos prospectivos ou retrospectivos observacionais; revisão de literatura sistemática e não sistemática; ensaio clínico controlado; guia de prática clínica e estudos de coorte

Os critérios de exclusão foram relatos de casos, incluindo editoriais, resenhas, cartas ao editor e estudos em animais. Os artigos encontrados nessa estratégia foram selecionados pela leitura dos seus títulos e resumos e selecionados aqueles que abordam com relevância o tema fotoeducação para prevenção ao câncer de pele.

Resultados

LOURENÇO *et al.* (2010), avaliaram o conhecimento da população de Iporá, em Goiás, sobre o fotoenvelhecimento. Os autores demonstraram que 54,2% conheciam os malefícios do sol sobre a pele, mas não se protegiam frequentemente e somente 4,6% dos entrevistados usavam protetor solar todos os dias.

OLIVEIRA *et al.* (2011) propuseram estudo para identificar os hábitos relacionados à exposição solar dos professores de Educação Física (EF) que trabalham com atividades aquáticas. Estudo observacional do tipo transversal através de questionário com 123 professores. Do grupo exposto ao sol, verificou-se que, apenas 17,9% sempre se protegiam. Concluíram que o grupo se encontrava, frequentemente, exposto à radiação solar e, portanto, trata-se de categoria com grande risco de desenvolvimento de câncer de pele. Assim, esse grupo deveria ser alvo de maior atenção e cuidados relacionados à prevenção.

SOUZA *et al.* (2011) estimaram os custos do tratamento do câncer de pele não-melanoma no Estado de São Paulo entre 2000 a 2007 e concluíram que o câncer de pele representa grande impacto financeiro ao sistema público e aos sistemas privados de saúde. Por esta razão, se fazem necessárias políticas públicas de prevenção, campanhas educativas e conscientização da população, direcionadas a públicos específicos, como crianças, adolescentes e seus pais, assim como profissionais que estão em constante exposição ao sol.

REINAU *et al.* (2013) conduziram uma revisão sistemática da literatura e constataram que os comportamentos relatados de proteção do sol foram amplamente inadequados, com muitos trabalhadores declarando que nunca ou raramente usavam camisa de manga comprida (50-80%), chapéu (30-80%) e protetor solar (30-100%), enquanto trabalhavam. No entanto, há evidências crescentes de que a educação ocupacional sobre segurança solar é eficaz em aumentar os hábitos de proteção solar

dos trabalhadores ao ar livre e, presumivelmente, na diminuição das taxas de queimaduras solares. Com base nessas descobertas, os programas de proteção solar no ambiente de trabalho oferecem potencial para reduzir a carga de câncer de pele em pessoas alto risco.

SCHALKA *et al.* (2014) desenvolveram, em conjunto a Sociedade Brasileira de Dermatologia, o Consenso Brasileiro de Fotoproteção, o primeiro documento oficial com recomendações envolvendo a fotoproteção no Brasil. Quase todo o território nacional está localizado entre o Equador e o Trópico de Capricórnio, o que certamente torna o Brasil um dos países do Mundo com maior extensão de terra na proximidade do sol. O litoral brasileiro, onde vive a maioria de sua população, tem mais de 8.500 km de extensão. Devido às características geográficas e tendências culturais, os brasileiros estão entre os povos com maior exposição anual ao sol. Dados epidemiológicos mostram aumento contínuo na incidência de câncer de pele não-melanoma e melanoma. A fotoproteção pode ser entendida como conjunto de medidas que visam reduzir a exposição solar e prevenir o desenvolvimento de dano actínico agudo e crônico. Medidas fotoprotetoras são: fotoeducação, fotoproteção tópica, fotoproteção oral e fotoproteção mecânica (obtida por sombra, roupas e acessórios).

GORDON & ROWELL (2015) realizaram revisão sistemática sobre estimativas nacionais dos custos do sistema de saúde do câncer de pele e o custo-eficácia do rastreamento e prevenção. Os custos do câncer de pele foram maiores para a Austrália, Nova Zelândia, Suécia e Dinamarca. Iniciativas de prevenção são altamente efetivas e podem ser econômicas. Programas de detecção precoce de melanoma voltados para indivíduos de alto risco também pode ser custo-efetivos; no entanto, análises atualizadas são necessárias. Portanto, a incidência e os custos com o câncer, em muitos países, crescerão. Investimento público e programas de prevenção e detecção precoce mostram potencial com benefícios para saúde e economia.

SILVA *et al.* (2016) pesquisaram os hábitos de proteção dos carteiros no município de Mossoró, no Rio Grande do Norte. Todos os carteiros relataram o fornecimento do protetor solar pela empresa, mas 60% deles o utilizavam apenas uma vez ao dia, acreditando que já estariam protegidos.

PURIM *et al.* (2014), identificaram que os hábitos solares adotados por um grupo de atletas são impróprios e concluíram que há necessidade de ampliar medidas fotoprotetoras, visando a prevenção de doenças neoplásicas e do envelhecimento cutâneo, relacionados à exposição solar desprotegida.

CARDOSO *et al.* (2017) analisaram a prevalência de fotoproteção e seus fatores associados no grupo de risco para câncer de pele em Teresina, Piauí. Um total de 243 agentes comunitários de saúde participaram do estudo. A taxa de prevalência de uso de filtro solar foi de 34,2% para aqueles que usam o filtro solar diariamente. Considerando o uso de filtro solar na maioria dos dias da semana, a prevalência aumentou para 55,2%. Sessenta e oito agentes de saúde (28%) relataram não usar filtro solar. Os fatores associados a maior uso de filtro solar foram gênero feminino, idade avançada e conhecimento dos efeitos negativos do sol. Concluíram que grupos de trabalhadores expostos a frequente radiação solar devem ter maior prevalência de fotoproteção do que a população geral e há necessidade de implementação de estratégias educativas em relação à fotoproteção.

ZIEHFREUND *et al.* (2019) realizaram revisão sistemática com o objetivo de fornecer visão atualizada da prevenção primária, conhecimento e atitudes comportamentais relacionados ao câncer de pele, incluindo trabalhadores ao ar livre. O conhecimento e a atitude relacionados ao sol mostraram diferenças substanciais com alguns resultados alarmantes. Trabalhadores agrícolas da Itália e trabalhadores rurais migrantes latinos não tinham conhecimento adequado. Vinte e dois por cento dos trabalhadores rurais migrantes latinos nos EUA nunca tinham ouvido falar de câncer de pele. Trabalhadores agrícolas da Suíça e funcionários do parque estadual dos EUA demonstraram alto conhecimento, enquanto trabalhadores hispânicos americanos e latinos tinham conhecimento insuficiente sobre o câncer de pele. Entre vários grupos ocupacionais ao ar livre, 9-86% dos trabalhadores aplicavam protetor solar durante o trabalho. A busca de sombra durante o trabalho variou de 4 a 85% entre trabalhadores de áreas externas de vários grupos ocupacionais. A porcentagem de trabalhadores em atividades ao ar livre que declararam usar qualquer tipo de chapéu no trabalho variou entre 3% e 94%. Concluiu-se que o conhecimento e comportamento relacionados ao sol em geral precisam ser melhorados o mais rápido possível. Programas de

proteção solar usando novas tecnologias parecem ter grande potencial para aumentar o conhecimento. O uso de mensagens personalizadas ou aplicativos para smartphones podem ser muito eficazes em larga escala, especialmente para grupos de alto risco.

ZINK (2019), refere que o carcinoma de queratinócitos, também conhecido como não melanoma, é o câncer maligno mais comum em todo Mundo, ocasionando imenso custo econômico na saúde. Estima-se em 4% de todas as despesas para tumores malignos, apenas nos EUA. Com a radiação solar ultravioleta sendo o principal fator de risco, vários países incluindo a Alemanha, aceitaram o carcinoma de queratinócitos como doença ocupacional de profissões ao ar livre (agricultores, jardineiros, trabalhadores da construção civil e outros). A prevalência nesses grupos de alto risco é significativa, mas a conscientização e o comportamento preventivo ainda permanecem inadequados. Portanto, conhecimento atualizado sobre o tratamento e particularmente estratégias de prevenção são de grande interesse para profissionais de saúde, bem como pesquisadores e autoridades.

RAGAN *et al.* (2019), apresentaram estudo com os dados da principal fonte de informação sobre a saúde da população civil não institucionalizada dos Estados Unidos (*National Health Interview Survey -NHIS*). Em 2015, avaliaram, por entrevistas, os comportamentos de proteção solar entre os trabalhadores agrícolas e da construção civil que estão com risco aumentado de câncer de pele, por causa dos altos níveis de exposição à radiação ultravioleta. Foram incluídos no estudo 2.298 trabalhadores agrícolas e da construção civil. A prevalência do uso de filtro solar e a procura de sombra foram baixas e não diferiram significativamente entre grupos, variando de 15,1% a 21,4% para uso de filtro solar e 24,5% a 29,1% para busca de sombra. A prevalência do uso da proteção vestuário foi maior entre os trabalhadores agrícolas (70,9%) do que entre os trabalhadores da construção civil (50,7%). Concluíram, que esses dados podem ser usados para melhorar as abordagens de saúde ocupacional, com iniciativas de educação e prevenção para reduzir o risco de câncer de pele nesses grupos.

PETERS *et al.* (2019) realizaram estudo para caracterizar os níveis de exposição à radiação ultravioleta solar entre trabalhadores ao ar livre, em três províncias canadenses. Monitoraram trabalhadores no ano de 2016 (final do verão / início

do outono de 2016) através de crachá de medição de radiação UV. Foi realizada dosimetria pessoal e comparada com o limite de exposição recomendado internacionalmente (1,3 SED), bem como o total de radiação UV disponível, por data. A média da dose pessoal de radiação UV dos trabalhadores participantes foi quase cinco vezes o limite. Apenas 14% dos trabalhadores experimentaram níveis “aceitáveis” de radiação solar; 10% foram expostos em dez vezes o limite. Trabalhadores de serviços públicos tiveram o dobro da exposição dos trabalhadores municipais. Portanto, a superexposição solar ultravioleta entre trabalhadores ao ar livre é preocupação, mesmo no Canadá, com radiação UV de ambiente relativamente baixa. A implementação de programas de segurança solar deve ser apoiada em esforço para reduzir a exposição nesse grupo vulnerável de trabalhadores.

WILD *et al.* (2020) no relatório mundial do câncer da Organização Mundial de Saúde (OMS) reafirmam que a incidência de câncer de pele está aumentando em todo o mundo, não apenas nas populações brancas. Uma expectativa de vida mais longa contribui para esse aumento de risco, porque o câncer de pele não melanoma é mais comum em pessoas idosas. A maneira mais eficaz de reduzir a incidência de câncer de pele é evitar a exposição solar desnecessária e adotar medidas preventivas pessoais de proteção contra a luz solar, usar roupas de proteção, usar chapéu, aplicar protetor solar e usar sombra. O público deve ser avisado de que a força da radiação UV não se correlaciona com a temperatura. Mesmo em dias nublados, cerca de 80% da radiação solar UV atinge o nível do solo. Cerca de 10% da radiação solar UVB passa através de janelas de vidro. Os melanomas cutâneos podem surgir de um nevo benigno preexistente ou ocorrer na pele cronicamente danificada pelo sol.

Conclusão

A revisão da literatura evidência um importante problema de saúde pública com a alta incidência de câncer de pele e alto custo do seu tratamento, que se agrava com a falta de conhecimento e informação das pessoas, expondo-as a fatores de risco sem devida proteção. Portanto, nota-se a importância da fotoeducação, contra seu principal fator de risco, a exposição solar cumulativa e prolongada, através de tecnologias e de fontes de informação acessível ao

público em geral principalmente aos grupos de riscos para prevenção e detecção precoce do câncer de pele e consequente diminuição da morbimortalidade.

Referências

Cardoso FAMES, Mesquita GV, Campelo V, Martins MDCCE, Almeida CAPL, Rabelo RS, Rocha AEA, Santos JLOD. Prevalence of photoprotection and its associated factors in risk group for skin cancer in Teresina, Piauí. *An Bras Dermatol.* 2017;92(2):206-10.

Castilho IG, Marcelo R, Leite S, Aparecida M, Sousa A. Fotoexposição e fatores de risco para câncer da pele: uma avaliação de hábitos e conhecimentos entre estudantes universitários. *An Bras Dermatol.* 2010;85(2):173-78.

Cortez, DAG, Machado ES, Vermelho SCSD, Teixeira JJV, Cortez LER. O conhecimento e a utilização de filtro solar por profissionais da beleza. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2016; 21(7): 2267-74.

Diepgen TL, Fartasch M, Drexler H, Schmitt J. Occupational skin cancer induced by ultraviolet radiation and its prevention. *British Association of Dermatologists.* 2012; 67:76-84.

Gallagher RP, Lee TK. Adverse effects of ultraviolet radiation: a brief review. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006; 92:119-31.

Gordon LG, Rowell D. Health system costs of skin cancer and cost-effectiveness of skin cancer prevention and screening: a systematic review. *European Journal of Cancer Prevention.* 2015; 24(2):141-49.

Instituto Nacional do Câncer [homepage da internet]. Câncer de Pele não-melanoma [acesso em 27 dezembro 2019]. Disponível em <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-nao-melanoma> (INCA, 2018a).

Instituto Nacional do Câncer [homepage da internet]. Câncer de pele e melanoma [acesso em 27 dezembro 2019]. Disponível em <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-melanoma> (INCA, 2018b).

Instituto Nacional do Câncer [homepage da internet]. Câncer de pele e melanoma [acesso em 29 março 2020]. Disponível em <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf> (INCA, 2020)

Lourenço GSF, VALE CR, Ferreira LG. Avaliação

do nível de conhecimento sobre fotoenvelhecimento e levantamento de casos de câncer de pele em Iporá-GO. *Enciclopédia Bioesfera,* 2010; 6(9): 01-14.

Oliveira LM, Glauss N, Palma A. Habits related to sun exposure among physical education teachers working with water activities. *An Bras Dermatol.* 2011;86(3):445-50.

Oliveira DA, Gomes HC, Filho RSO, Ferreira LM. Câncer de pele: conhecer para melhor combater. São Paulo: Senac; 2018. 73p.

Peters CE, Pasko E, Strahlendorf P, Holness DL, Tenkate T. Solar Ultraviolet Radiation Exposure among Outdoor Workers in Three Canadian Provinces. *Ann Work Expo Health.* 2019 XX(XX)1-10.

Popim RC, Corrente JE, Marino JAG, Souza CA. Câncer de pele: uso de medidas preventivas e perfil demográfico de um grupo de risco na cidade de Botucatu. *Ciência e Saúde Coletiva.* 2008;13(4):1331-36.

Purim KSM, Franzoi, CF. Hábitos solares e fotoproteção de médicos – estudo exploratório. *Rev. Med. Res.* 2014;16(2):89-98.

Ragan KR, Buchanan Lunsford N, Thomas CC, Tai EW, Sussell A, Holman DM. Skin Cancer Prevention Behaviors Among Agricultural and Construction Workers in the United States, 2015. *Prev Chronic Dis.* 2019;16: E15

Reinau D, Weiss M, Meier CR, Diepgen TL, Surber C. Outdoor workers' sun-related knowledge, attitudes and protective behaviours: a systematic review of cross-sectional and interventional studies. *Br J Dermatol.* 2013;168(5):928-40.

Rocha FP, Menezes AMB, Almeida JHL, Tomasi E. Especificidade e sensibilidade de rastreamento para lesões cutâneas pré-malignas e malignas. *Rev Saúde Pública.* 2002;36:101-6.

Saraiya M, Glanz K, Briss PA, Nichols P, White C, Das D, Smith SJ, Tannor B, Hutchinson AB, Wilson KM, Gandhi N, Lee NC, Rimer B, Coates RC, Kerner JF, Hiatt RA, Buffler P, Rochester P. Interventions to prevent skin cancer by reducing exposure to ultraviolet radiation: a systematic review. *American Journal of Preventive Medicine, New York.* 2004;27(5):422-66.

Schalka S, Steiner D, Ravelli FN, Steiner T, Terena AC, Marçon CR, Ayres EL, Addor FA, Miot HA, Ponzio H, Duarte I, Neffá J, Cunha JA, Boza JC, Samorano LP, Corrêa MP, Maia M, Nasser N, Leite OM, Lopes OS, Oliveira PD, Meyer RL, Cestari T, Reis VM, Rego VR; Brazilian Society of Dermatology.

Brazilian consensus on photoprotection. *An Bras Dermatol.* 2014;89(6 Suppl 1):1-74.

Silva VP, Paiva TMA, Sousa TAA, Marques RCP. Câncer de pele: uso de medidas preventivas e perfil demográfico de um grupo de risco na cidade de Mossoró/RN. *Revista Extendere.* 2016;4(1):76-84.

Souza RJSP, Mattedi AP, Corrêa MP, Rezende ML, Ferreira ACA. Estimativa do custo do tratamento do câncer de pele tipo não-melanoma no Estado de São Paulo - Brasil. *An. Bras. Dermatol.* 2011; 86(4): 657-62.

Umezono Y, Sato Y, Noto M, Yamada K, Noguchi N, Hasunuma N, Osada SI, Manabe M. Incidence rate of cutaneous squamous cell carcinoma is rapidly increasing in Akita Prefecture: Urgent alert for super-aged society. *J Dermatol.* 2019;46(3):259-62.

Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW, editors (2020). *World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention.* Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Disponível em: <http://publications.iarc.fr/586>.

Ziehfreund S, Schuster B, Zink A. Primary prevention of keratinocyte carcinoma among outdoor workers, the general population and medical professionals: a systematic review updated for 2019. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019.

Zink A. Trends in the treatment and prevention of keratinocyte carcinoma (non-melanoma skin cancer). *Curr Opin Pharmacol.* 2019;46:19-23.

Review Article

PHYLLANTHUS NIRURI L. (STONE-BREAKER) AS AN ALTERNATIVE OF ANTI-HUMAN DISEASES, ANTIMICROBIAL AGENT, AND ITS APPLICABILITY TO COMBAT RESISTANT MICROORGANISMS. A BRIEF REVIEW.

Authors: Flávia Camila Maia¹; Gayan Kanchana Wijesinghe¹; Thaís Rossini de Oliveira¹; Janaina Priscila Barbosa¹; Simone N. Busato de Feiria¹; Giovana C. Boni¹; Marcelle Marie Buso Ramos¹; Paula Cristina Anibal¹; José Francisco Höfling^{1,A}

¹Piracicaba School of Dentistry - Unicamp - São Paulo - Brazil.

Informações do artigo

Palavras-Chave:

Phyllanthus niruri L.;
Microbioma; *Candida* spp.

Resumo

O microbioma humano sofre variação nas mais diversas regiões do nosso corpo, de acordo com as condições a qual está exposto, sendo de vital importância para a saúde humana. Apresenta diversas condições que podem promover o estabelecimento de microrganismos e em desequilíbrio favorecem o desenvolvimento de microrganismos patógeno-opportunistas, o conhecimento da distribuição destes microrganismos nos diferentes órgãos e seu papel biológico conduz a um melhor entendimento da sua complexa dinâmica, aprimorando o desenvolvimento de novas formas de diagnóstico e até mesmo de tratamento de certas patologias. Dentre as patologias mais estudadas na atualidade podemos citar as infecções ocasionadas por fungos são uma das áreas amplamente estudadas. Estes microrganismos estão se tornando cada vez mais resistentes aos tratamentos convencionais, aumentando os relatos de resistência, especialmente as espécies de *Candida*, que apesar de estar presente na flora normal do organismo humano vêm causando diversos casos de contaminação e infecções, denominados candidoses na literatura. Devido ao aumento da resistência aos tratamentos antifúngicos convencionais é necessário a elaboração de estratégias que possam prevenir e tratar a disseminação destes microrganismos. Para isso, estudos alternativos com plantas medicinais vêm crescendo e ampliando o entendimento e aplicabilidade de novos compostos com finalidades

^ACorresponding author

Prof. Dr. José Francisco Höfling - E-mail: hofling2@unicamp.br - ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6054-0688> - Piracicaba School of Dentistry, Avenida Limeira, 901 - 13.414-903, Piracicaba, SP, Brazil.

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.99> - Article received on June 23, 2020; Accepted on July 10, 2020; published on 23 July 2020 in the Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.2, online, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. All authors contributed equally to the article. The authors declare that there is no conflict of interest. This is an open access article under the CC - BY license: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.

antimicrobianas, visto que, há milênios a humanidade utiliza plantas para tratamento de diversos tipos de doenças e esse conhecimento tradicional facilita a busca de alvos de pesquisa de componentes naturais provenientes de plantas, permitindo a comprovação científica desses efeitos terapêuticos. Este trabalho tem por objetivo um levantamento bibliográfico das aplicabilidades da planta de *Phyllanthus niruri* L. (Quebra-pedra), frente aos desafios da ciência ao desenvolver novas fontes de combate a microrganismos resistentes.

Article ID

Key words:

Phyllanthus niruri L.;

Microbioma; *Candida* spp.

Abstract

The human microbiome undergoes variation in the most diverse regions of our body, according to the conditions to which it is exposed, being of vital importance for human health. It presents several conditions that can promote the establishment of microorganisms and in imbalance favor the development of opportunistic pathogens, the knowledge of the distribution of these microorganisms in different organs and their biological role leads to a better understanding of their complex dynamics, improving the development of a new one forms of diagnosis and even treatment of certain pathologies. Among the most pathologies studied today, we can mention infections caused by fungi is one of the widely studied area. These microorganisms are becoming increasingly resistant to conventional treatments, increasing reports of resistance, especially the *Candida* species, which despite being present in the normal flora of the human organism have been causing several cases of contamination and infections, called candidosis. Due to the increased resistance to conventional antifungal treatments, it is necessary to develop strategies that can prevent and treat the spread of these microorganisms. For this, alternative studies with medicinal plants have been growing and expanding the understanding and applicability of new compounds with antimicrobial properties, since, for millennia, mankind has used plants to treat various types of diseases and this traditional knowledge facilitates the search for research targets of natural components from plants, allowing scientific proof of these therapeutic effects. This work aims at a bibliographical survey of the applicabilities of the *Phyllanthus niruri* L. (stone-breaker) plant, in the face of the challenges of science when developing new sources to combat resistant microorganisms.

Literature review

Microbiome

Since birth, the human body is exposed to several microorganisms species, which are housed in various organs and tissues, such as skin, genitourinary and gastrointestinal systems, this interaction is called “microbiome” (Cardoso, 2015; Sender et al. 2016;

Germano et al., 2018). The human microbiome consists of a complex diversity of microorganisms that colonize each individual, which may be commensal or pathogenic microorganisms, establishing a symbiotic relationship between the human organism and microorganisms, such as *Candida albicans* (Weber and Polanco, 2012; Cardoso, 2015; Wilson, 2018). A healthy human presents favorable and unfavorable conditions for the establishment of different species

and can contain approximately 3.8×10^{13} microbial cells (Sender et al. 2016). Most of them are harmless throughout life for healthy hosts, remaining viable and active in the organs and can help in essential functions, such as digestion, induction of production of components used for metabolism and defense of the host, can also be used activity against pathogenic microorganisms. These characteristics demonstrate an important biological interaction with our microbiota (Cho and Blaser, 2012; Weber and Polanco, 2012; Cardoso, 2015; Sender et al., 2016; Gajdács et al., 2019).

Health and disease are closely linked to the normal human microbiota, the microorganisms inhabit the host without causing apparent damage or disease, however, under certain conditions of imbalance of the host, can cause some disturbances to the human body by differentiation and proliferation. When the host defence mechanisms are unable to eliminate them, they can spread through out the tissues and cause infectious diseases, which can eventually be serious (Lamont and Jenkinson, 2010; Cardoso, 2015; Germano et al., 2018).

Oral Microbiome

Soon after the birth of an individual, the oral microbiota begins to establish itself, where the microbial diversity and quantity will change in the course of their life (Santos Júnior and Izabel, 2019). Because this location is the beginning of the digestive system, it is considered as the gateway to the human organism, where some microorganisms can enter and establish. In this environment, microorganisms are mixed with saliva, proteins and enzymes in the digestion process, which can hinder their eradication and study in different environments due to the presence of different components present in oral conditions (Silva, 2016; Campo, 2018).

The oral cavity of an individual is cohabited by several microorganism's species that live in the various regions of the interior of the mouth (tongue, teeth and others) (Cardoso, 2015). Each individual can have different types of microorganisms, which in balance maintain the oral and general health of the host organism. However, when the host organism is affected, its health is impaired and these microorganisms take advantage, becoming pathogenic; this is what happens in fungal infections,

usually caused by *Candida* species, which can favor or promote some diseases such as dental caries and periodontal diseases (Cardoso, 2015; Silva, 2016; Campo, 2018; Wilson, 2018; Gajdács et al., 2019). The imbalance between the host and the microbiota can promote infections and other types of diseases such as pericarditis, pneumonia, gastric ulcer, coronaritis, and many more (Cardoso, 2015; Silva, 2016; Campo, 2018; Gajdács et al., 2019). The presence of unbalanced *Candida* spp in the host can promote the formation of dental biofilm, which can be co cultured with bacteria, can be colonize in different places of the oral cavity, such as tongue, gums, labial mucosa and palate, and can adhere to oral prostheses or implants, forming a layer composed of numerous microorganisms (Peixoto et al., 2010; Campo, 2018).

Candida spp.

Taxonomically, approximately 200 species of *Candida* are described in the Fungi Kingdom, division Eumycota, subdivision Deuteromycotina, however some species are grouped in the subdivision Ascomycotina, class Blastomycetes and Family Cryptococcaceae (Santana et al., 2013).

The cell structure of fungi is similar to that of other eukaryotic organisms, consisting of a cell wall composed mainly of polysaccharide chitin, being a relatively rigid and dynamic structure, which provides several essential properties to the cell by maintaining the cells shape and providing the osmotic support. Other important functions of cell wall are physical protection, is related to cell signaling, adhesion to surfaces and reproduction etc. This structure is also composed of a phospholipid membrane, with predominating ergosterol, cytoplasm with organelles, vacuoles and the nucleus with stored genetic material (Fukuda et al., 2009; Santana et al., 2013). Microorganisms of the genus *Candida* are yeast-like, unicellular eukaryotic fungi. Their morphology can be oval, rounded or elongated with asexual reproduction by budding, called blastoconidia (Santana et al., 2013).

For most *Candida* species, two distinct morphological forms can be identified, namely blastopores and hyphae, these two morphological forms has a high potential to produce solid and resistant biofilms, causing serious infections (Álvares et al., 2007; Purisco, 2010; Simões et al., 2013; Ruiz and Pereira, 2016, Quindós et al., 2018). This fungi

have an accelerated development, quickly forming extensive biofilms on different surfaces of the host, including the oral mucosa that, together with the constant salivary production and the consumption of foods that serve as a source of nutrients for microbial growth, This microorganism has the ability to adhere and form germ tubes, which can cause disease in the host by tissue invasion, production of extracellular proteases, induction of hypersensitivity or production of toxins and the formation of biofilm. (Lamont and Jenkinson, 2010; Silva, G., 2013; Bath et al., 2014; Silva, 2016; Oliveira, 2019).

Infections caused by the genus *Candida*, are referred as candidiasis or, more recently, candidosis in the literature. They are caused by fungi that proliferate rapidly, form extensive biofilms on different surfaces of the host, including the oral mucosa with the favor of constant salivary production and the availability of high concentrations of nutrients for microbial growth. The biofilm structure, formed by these fungi, can also be installed in hospital and personal devices, such as catheters and prosthetic surfaces or devices (Lamont and Jenkinson, 2010; Bath et al., 2014). In elderly and immunosuppressed patients, the conversion of normal oral *Candida* into an infectious pathogen can be much more harmful, forming biofilms on mucous membranes and on prosthetic surfaces, where infected oral prostheses cause prosthetic stomatitis in most cases associated with erythematous candidiasis (Silva, 2013; Bath et al., 2014).

Candidiasis can be mucous, cutaneous-mucous, cutaneous or visceral, with optimal growth in moist and warm areas, which affect vaginitis, dermatitis and candidiasis. These manifestations of the disease do not normally cause a threat to the life of the host, but they represent a socioeconomic problem of high importance. Cutaneous candidiasis and chronic mucosal infections are associated with low activity of the immune system, individuals with hereditary immunological defects and carriers of the human immunodeficiency virus or iatrogenic. Chronic vaginal candidiasis is affected by several factors, such as diabetes mellitus, pregnancy, antibiotic therapy, among others. And disseminated candidiasis is associated with a low neutropaenia, leukemia, chemotherapy or immunosuppression in post-transplant patients (Álvares et al., 2007).

Currently, infections caused by *Candida* spp. can vary from superficial lesions to serious and widespread

infections, having great importance for the frequent incidence with which they colonize and infect the human body, corresponding to approximately 80% of the infections caused by fungi registered in hospitals, where half of these infections turn into candidemia (blood infection caused by the fungus *Candida* spp.), representing a high mortality rate (Colombo and Guimarães, 2003, Álvares et al., 2007; Sá Silva et al., 2009; Ruiz and Pereira, 2016).

About 10% of these microorganisms are considered to be etiological agents in human infections, generally characterized as opportunistic microorganisms present on the mucous surface and skin of human beings (Santana et al., 2013), where they are commonly found in the gastrointestinal system of 80% of the healthy population, and 30% of the female population has colonization by *Candida* spp. in the vaginal mucosa (Colombo and Guimarães, 2003).

Clinically they are not pathogenic to humans, but are classified as opportunistic pathogens, as they have the potential to invade hosts, becoming responsible for many cases of hospital infections and high mortality, especially in patients with low immune system activity. The *Candida* contamination corresponds to 80% of fungal infections registered in hospitals, and eradication in health sectors is essential due to the manifestation of the infection and the rapid colonization (Colombo and Guimarães, 2003; Cardoso, 2015; Silva et al., 2014; Ruiz and Pereira, 2016).

Infections of the genus *Candida* represent a growing problem in the areas of public health, increasing the length of patients hospitalization and increasing the hospital cost (Menezes et al., 2012; Costa and Santiago, 2016). Thus, due to the increased incidence over the years the rate of morbidity and mortality caused by *Candida* spp. has become a fact. The pathogenic power of *Candida* spp. has been particularly well studied in *C. albicans* (Cardoso, 2015; Silva et al., 2014; Ruiz and Pereira, 2016).

The study of the *Candida albicans* is extremely important due to its virulence factors. And medicinal plants are very important for the development of natural drugs for treatment. Although there are drugs used against the *Candida* spp, making them less susceptible to these drugs, which produce low susceptibility to the treatment, due to the development fungal resistance (Barbedo and Sgarbi, 2010; Costa and Santiago, 2016; Liu et al., 2016; Silva, 2017; Revie et

al., 2018). Incorrect use of available antimicrobials can also increase the toxicity to the host, action spectrum problems and side effects. Assessing and monitoring the susceptibility of these microorganisms is of great importance in order to reduce the risk of spread and avoid resistance. On the other hand, the importance of related research in the discovery of novel compounds that act against these microorganisms is development of new strategies to prevent, reduce or assist treatment against fungal infections (Bergold and Georgiadis, 2004; Costa and Santiago, 2016; Liu et al., 2016; Silva, 2017; Revie et al., 2018).

The use of natural products as an alternative therapeutic agent

Medicinal plants are considered to have therapeutic action, based on popular or scientific knowledge. Herbal medicines are prepared only by plant species, with no mixing with synthetic compounds (Oliveira, 2016).

The use of plants for medicinal purposes was one of the first treatment resources used against diseases by ancient people, which have been scientifically improved since then (Braz et al., 2015; Buso Ramos, 2016). Since ancient times, empirical knowledge about the use of plants has been observed and passed from generation to generation by different ethnic groups, used for treatments and disease prevention (Escola de Saúde Pública, 2018; Silva, 2008).

In several countries, mainly in the populations which has little or no access to conventional medicines, treatment based on empirical knowledge has been adopted as a form of prevention and cure for many diseases (Leão et al., 2017). In Brazil, knowledge about the use of medicinal plants was acquired through indigenous practices, as well as practices derived from the knowledge of immigrants and also by slaves, which has become a traditional folk medicine, which has recently been recognized by the World Organization of Health (Escola de Saúde Pública, 2018). Brazil has the highest plant biodiversity in the world, with more than 60,000 species cataloged, of which only 8% have been researched on biotic and medicinal compounds (Salomé, 2007).

In 1991, the WHO (World Health Organization) reported the necessary contribution of traditional folk medicine in social assistance, mainly to inhabitants with little accessibility to health systems and began

to encourage the use of proven and studied medicinal plants, showing that 80 % of the population uses plants to relieve unpleasant symptoms or pain (Salomé, 2007). The approval of the National Policy on Integrative and Complementary Practices (PNPIC) and the National Policy on Medicinal and Herbal Plants (PNPMF) allowed the implementation of phytotherapy in the Unified Health System (SUS), allowing users of health services to know and use the medicinal herbs, ensuring that the values and traditions passed on between generations are preserved and that the use of plants occurs correctly and safely, balancing the existing strands between traditions and innovations. Medicines derived from plant materials have a great importance in global health. Also, this knowledge has been maintained for generations because of the continuous and natural supply of phytomedicines, being an effective alternative to the antimicrobial resistance which is currently frequent in Brazil. Indiscriminate and excessive use of antimicrobials are key reasons for the development of this resistance. Further phytomedicinal products have low side effects and they are cost effective (Brasil, 2006; Martins et al., 2012; Queiroga, 2015; Brasil, 2016).

The use of medicinal plants in health systems has become increasingly relevant to public health, allowing social inclusion and impacting the country's productivity, also allowing to preserve the culture of a people and care for the environment. Medicinal plants can be used as a strategy for innovation, knowledge, used as a way of preventing diseases and contributing to the advancement of scientific research (Feiria, 2015; Queiroga, 2015; Boni, 2016; Buso-Ramos, 2017; Anibal et al., 2017; Barbosa, 2018; Oliveira, 2019).

Medicinal plants are proven to be the source of several natural antioxidants, an extensive variety of secondary metabolites (Martins et al., 2012). Its compounds also have several types of biological activities, including antifungal, antimicrobial, antitumor, antiparasitic, anti-inflammatory, healing, and many others (Nunes et al., 2016). They are considered one of the main sources for the development of therapeutic agents for several conditions, including for infectious diseases (Silva, 2008; Buso-Ramos, 2017).

Recently, plants are being studied more and more in order to demonstrate their therapeutic potential and to find less aggressive and efficient treatments that help in conjunction with drugs or decrease

the resistance acquired by microorganisms to antimicrobials already used, thus research with plants has been showing of great importance to combating infections (Martins et al., 2012; Nunes et al., 2016).

In this context, the *Phyllanthus* genus is investigated, especially in this work the species *Phyllanthus niruri*, that has shown wide biological activity and great therapeutic potential, justifying the exploration of this plant in research.

***Phyllanthus* spp.**

The classification of the genus consists of: Kingdom: Plantae; Division: *Angiosperm*; Class: *Dicotyledonous*; Order: *Tubiflorae*; Family: *Euphorbiaceae* / *Phyllanthaceae*; Subfamily: *Phyllanthoideae*, Tribe: *Phyllanthae*, Subtribe: *Flueggeinae*, Genus: *Phyllanthus* (Rehder et al., 2003; Silva and Sales, 2004).

The genera was first referred by Linnaeus, in 1737 in the book "Systema Naturae", but it was only established later by the same author in 1753, in the book "Species Plantarum" (Silva and Sales, 2004). The genus *Phyllanthus* (from the Greek phyllon: leaf and anthos: flower) is made up of herbs, shrubs or monoecious or dioecious trees, comprising more than 8,000 species spread over most continents (Sarin et al., 2014), being considered the most diverse and the largest genus of the Euphorbiaceae family because the diversity of vegetative and floral characteristics (Kassuya et al., 2003; Rehder et al., 2003; Torres et al., 2003, Martins et al., 2014; Falcon et al., 2019).

The *Phyllanthus* genus is prevalent in tropical and subtropical regions, in the most diverse types of vegetation (Rehder et al., 2003). It can be found in the American, African, Asian and Australian continents. In South America, Brazil is the country which contains the largest number of species, approximately 100 species, where 40% of them are found in the southeastern states of Brazil, which comprises the country's *Phyllanthus* diversity center (Martins, 2013; Martins et al., 2014; Leão et al., 2017).

In Brazil they are called "Erva-pombinha" or better known as "Quebra-pedra" among other variations of popular name; the most common species are herbs: *Phyllanthus amarus* Schum. and Thonn, *Phyllanthus niruri* L. and *Phyllanthus tenellus* Roxb. Müll. Arg. Some species have a landscape character despite not being cultivated. However, in most cases, they are considered as weeds, invaders in agriculture

and rural areas (Torres et al., 2003; Silva and Sales, 2004) where several species of the same genus grow together, causing confusion in their identification (Sarin et al., 2014). For this reason, they are called "species complexes", where a group of organisms share very similar phenotypic and morphological properties. Therefore, the classification based only on morphological characters may be erroneous. Within the *Phyllanthus* genus there is the "*P. niruri* complex", which comprises several taxa with leaf and floral characteristics extremely similar to the species *P. niruri* L. (Alonso and Amaral, 2010).

Previously, the species *P. amarus*, *P. fraternus* and *P. debilis* were grouped into a single group of the species *P. niruri*, mentioned as species of the "*niruri* complex". The genus *Phyllanthus* is paraphyletic, so there are two problematic and confused species: *P. niruri* and *P. amarus*, which are often confused, but are two individual species (Lee et al., 2006). Currently, it has been clarified that *P. niruri* is an American species. Thus, the identification of the species can often be mistaken, requiring the use of chemical and molecular markers to identify *Phyllanthus* species (Sarin et al., 2014). Although there are other species of the genus, called "Quebra-pedra", only *P. niruri* has officially proven medicinal properties (Farmacopéia Brasileira, 2010; Oliveira, 2016).

It has been used in the form of leaves infusion, stems and roots for the treatment of numerous disorders, as it has different diuretic, analgesic, anti-inflammatory, antimicrobial and antitumor properties (Torres et al., 2003). Plants of the genus *Phyllanthus* are commonly used to treat liver, kidney and bladder calculi. Also used to treat colds, asthma, bronchial infections, jaundice, dysentery, inflammation and genitourinary infections, such as herpes and gonorrhea, in addition to diabetes. Recently, it was discovered the possible application in the treatment against the acquired immunodeficiency virus (HIV), Hepatitis B and cancers (Kassuya et al., 2003; Rehder et al., 2003; Salomé, 2007; Messias et al., 2015). Extracts made with *Phyllanthus* species have been reported to have good pharmacological effects, such as anti-hepatotoxic, anti-hyperglycemic and anti-hepatitis B virus (Salomé, 2007; Sarin et al., 2014).

Thus, the purified active compounds obtained from different *Phyllanthus* species have demonstrated antinociceptive activity, against hepatitis, inflammation and allergies (Kassuya et al., 2003; Torres

et al., 2003; Salomé, 2007). Most plants belonging to the *Phyllanthus* genus have several combinations of secondary metabolites and more than 50 compounds that classify them as medicinal plants (Sarin et al., 2014; Oliveira, 2016), as the beta-sistotolol compound among others, which acts on calculi prevention, inhibition and elimination, in addition to anti-inflammatory and analgesic activity (Kassuya et al., 2003; Sarin et al., 2014; Oliveira, 2016). The high quantity and efficiency of the components present in the plant make it a medicinal plant that is commonly used for preventive and curative treatments (Braz et al., 2015).

The study of phytochemical components have a great importance, since it recognizes the phytochemical compounds abundant in the plant species of interest, identifying the most present, relevant and useful compounds and secondary metabolites found in medicinal plants (Bessa et al., 2013). The use of ethnobotanical information and pharmacology helps in the search for bioactive compounds existing in medicinal plants, considering agrotechnological, biotechnological, pharmacological and microbiological parameters (Bessa et al., 2013). Within the *Phyllanthus* genus, there is a great variety of metabolites and the potential for the treatment of various pathologies. To prove the beneficial effects of the plant reported by popular medicine, several countries have been studying the plants of this genus (Salomé, 2007).

***Phyllanthus niruri* L.**

The *Phyllanthus niruri* species has a variety of popular names, such as: “stone-breaker, pigeon-weed” and “burrow-wall” among others, but the best-known common name is “stone-breaker” in portuguese “Quebra-pedra”. It is the species of the genus with greater use in traditional medicine (Braz et al., 2015), it is a weed with 30 to 60 cm in height, grows in any type of soil, as well as growing between stones, walls, and cracks and it can be found with flower and with fruits throughout the year in all Brazilian states. It is native to the Amazon and other tropical regions of Brazil and the world, such as Nigeria, Ghana, Bahamas, India, China, among others (Girach et al., 1994; Oliveira, 2016; Leão et al., 2017). It is considered as a “weed”, because of its wide distribution, rapid proliferation and adaptability, which allows its incidence in several

regions of the world (Silva and Sales, 2004).

According to the Brazilian Pharmacopoeia, the species is characterized as herbaceous, glabrous, with branched or simple stems, the main branches are thin with no leaves, with lateral branches with alternating, opposite, simple, membranaceous, glabrous, oblong-elliptical leaves, of attenuated apex, of olive-green color and pale green abaxial face. When looking at the leaves together they appear to be composed, with blades 0.95 cm long and up to 0.6 cm wide, and petioles with a maximum length of 0.1 cm. They have schizocarpous fruits, of the tricoca type, with 0.1 cm to 0.25 cm in diameter, globose, exposed to the abaxial region of the branches, separating into carpids; olive green, membranous and verrucous endocarp; 2 seeds per lotus, triangular, with the ventral faces straight and the dorsal face rounded, warty, prominent warts, with acute to rounded apex; cylindrical pedicels, approximately 0.5 cm long at maturity; persistent, membranous calice, developed. The macroscopic characteristics of *Phyllanthus niruri* are decisive to distinguish them since the species can be very similar to others when observed with the anatomical characteristics (Farmacopéia Brasileira, 2010; Martins et al., 2014).

Currently, it is present in the National List of Medicinal Plants of Interest to SUS-RENISUS, with high productive potential for the Ministry of Health of Brazil, which suggests studies to subsidize the preparation of herbal products and advises on the use of medicinal plants made available for the population (Queiroga, 2015; Escola de Saúde Pública, 2018). Although other species of the genus are also called “Quebra-pedra”, only *P. niruri* has officially proven medicinal properties (Farmacopéia Brasileira, 2010; Oliveira, 2016), which does not cause psychological, physical changes or blood toxicity, does not showing results related to the toxic effects of the product (Braz et al., 2015).

Initial studies with *P. niruri* were performed by Brazilians researchers, since this plant is native to the country. The plant has a long history of use by Brazilians against several kind of diseases (Kaur et al., 2017), featuring various chemical compounds that have biological activities, what makes this plant considered as a medicinal plant with high therapeutic potential for preventive and curative treatments (Lorenzi e Matos, 2002; Salomé, 2007; Marques, 2010; Cruces et al., 2013; Escola de Saúde Pública, 2018).

Among these activities, is the antimicrobial capacity is one of the major therapeutic use of *P. niruri* due to presence of antimicrobial components. Some authors have demonstrated the ethyl esters have an antimicrobial activity against oral microorganisms, *S. mutans*, *S. gordonii*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum* e *C. albicans* (Huang et al., 2010). The ethyl ester of hexadecanoic acid and ethyl ester can be found in various plant extracts of the plant and act as hemolytic, pesticide, antioxidant, in addition to having antifungal and antibacterial action (Tyagi e Agarwal, 2017), especially on the yeast *C. albicans* (Santos Primo, 2013; Anibal et al., 2017).

The presence of metabolites and other compounds in the *P. niruri* plant, such as fatty acids, steroids, hexadecanoic acid ethyl ester (palmitic acid) and linolenic and linoleic acid ethyl ester, it assist in antioxidant and anti-inflammatory functions, as well as anti-acne, antihistamine, hemolytic, antiandrogenic, antiparasitic or nematocide, in addition to presenting antimicrobial activity (Santos, 2017; Tyagi e Agarwal, 2017).

The beta-sitosterol compound present in the *P. niruri* plant was antinociceptive and anesthetic potential, also has effective against several microbial species, such as *S. aureus*, *S. pyogenes*, *B. subtilis*, *P. aureginosa*, *S. typhi* e *C. albicans* (Acikara et al., 2014; Odiba et al., 2014; Sarin et al., 2014; Yinusa et al., 2016). Phytol also present in this plant has been shown anti-inflammatory, antinociceptive and antimicrobial (Leite, 2010; Ghaneian et al., 2015; Tyagi e Agarwal, 2017).

This species has been widely used in Brazilian popular medicine as a therapeutic treatment against various diseases, where research carried out in the last 35 years with cells and animal models has provided the knowledge of valuable scientific evidence that demonstrates the benefits of its use, among which are the properties against flu, dysentery, vaginitis, gastritis, besides having a calming effect (Braz et al., 2015; Messias et al., 2015; Lee et al., 2016). It has properties against genitourinary and intestinal infections; kidney and liver disorders, especially in the treatment of urinary system and kidney stones, with diuretic and analgesic factors; decreases the fixation of calcium oxalate in the renal walls and increases filtration through the glomeruli, causing relaxation of the ureter and excretion of uric acid, which facilitates the natural elimination of calculi

(Cruces et al., 2013; Braz et al., 2015).

The use of the plant helps to fight inflammation and infections, has an anesthetic, antioxidant, antispasmodic, antilipolytic, anti-inflammatory, anti-hyperalgesic and antinociceptive character (Gorski et al., 1993; Venturi e Randi, 1997; Lorenzi e Matos, 2002; Nascimento, 2008; Aita et al., 2009; Marques, 2010; Oliveira et al., 2012; Lee et al., 2016; Escola de Saúde Pública, 2018; Oliveira et al., 2019). It has also been demonstrated as a potential anti-hepatitis B, anti-diabetes and also as antiplasmodial, antiviral and antimicrobial, including anti-caries activities, which can be used in products for oral use (Venturi e Randi, 1997; Lorenzi e Matos, 2002; Nascimento, 2008; Aita et al., 2009; Marques, 2010; Oliveira et al., 2012; Sunitha et al., 2017; Escola de Saúde Pública, 2018; Oliveira et al., 2019). The use of the *Phyllanthus niruri* L. plant as an infusion prevents the agglomeration of calcium oxalate, and also prevents the adhesion of crystals in the epithelium, decreasing the endocytosis process and consequently the formation of calculi. The species has a self-defense that regulates the passage of calcium in its cells, accumulating these particles in its leaves, and this natural self-defense is maintained in the aqueous extract of the herb when the infusion is prepared, promoting the antispasmodic action and anti-hyperuricemic effects, used as a methanolic extract also demonstrates a reduction in uric acid (Braz et al., 2015; Lee et al., 2016).

The wide use of *Phyllanthus niruri*, due to its widespread use and knowledge of its therapeutic characteristics, is scientifically studied in several regions, mainly in India and Brazil, and the lack of a pre-established protocol for the performance of all tests limits the comparisons between the results of research that occur worldwide with this species (Salomé, 2007; Lee et al., 2016; Escola de Saúde Pública, 2018). Based on the available literature, the species *P. niruri* is commonly used and has numerous biological activities, and data on sensitivity to *P. niruri* extract, as well as activity against microorganisms in planktonic state or biofilm, may increase knowledge about the use of extracts as an antimicrobial agent in the treatment of bacterial and fungal infections or as coadjuvants, along with enabling its pharmacological action as a pharmacological agent, and analyze the possible side effects.

Conclusion

Through surveys carried out in this review, we may conclude that, researchs with medicinal plants, has been of great importance for the discovery of new compounds with antimicrobial properties. The understanding of these medicinal plants makes it necessary to know the mechanism of action by each component, when it comes in contact with the microorganism and thus, in this context, to be able to expand the options for the use of herbal medicines. The knowledge of the *Phyllanthus niruri* and its applicability as antimicrobial agent cited in this review must be take in account by researches in this area of investigation according the avaiable methodologies to know more about these specie and its applicability as medicinal agent.

Referências

- Aita AM, Matsuura HN, Machado CA, Ritter MR. Espécies medicinais comercializadas como “quebra-pedras” em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009; 19(2): 471-477.
- Alonso MA, Amaral MCE. Estudos taxonômicos e biosistemáticos no complexo *Phyllanthus niruri* L. (Phyllanthaceae). UNICAMP, 2010. Disponível em: <<https://www.prp.unicamp.br/pibic/congresso/xviiiicongresso/paineis/082090.pdf>>.
- Álvares CA, Svidzinski TIE, Consolaro MEL. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. *J Bras Patol Med Lab* 2007; 43(5): 319-327.
- ANIBAL, PC ; BARBOSA, JP ; OLIVEIRA, TR ; HÖFLING, JF . The chemical composition and inhibitory action of *Punica granatum* (L.) extracts against *Candida* spp.: A brief review. *ADVANCEMENT IN MEDICINAL PLANT RESEARCH* , v. 5, p. 68-74, 2017.
- Barbedo LS, Sgarbi DBG. Candidíase. *DST - J bras Doenças Sex Transm* 2010; 22(1): 22-38.
- Barbosa JP. Atividade anti-*Candida* de óleos essenciais de espécies de *Eucalyptus* [dissertação]. Brasil: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2018.
- Bath V, Sharma SM, Shetty V, Shastry CS, Rao V, Shenoy MS, Saha S, Balaji S. Screening of selected plant essential oils for their antifungal activity against *Candida* species isolated from denture stomatitis patients. *Nitte University Journal of Health Science* 2014; 4(1): 46-51.
- Bessa NGF, Borges JCM, Beserra FP, Carvalho RHA, Pereira MAB, Fagundes S, Campos SL, Ribeiro LU, Quirino MS, Chagas Junior AF, Alves A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde - Tocantins. *Rev. Bras. Pl. Med*, 2013; 15(4): 692-707.
- Boni GC. Avaliação da atividade anti-*Candida* de compostos purificados isolados de diferentes espécies de *Mentha* [dissertação]. Brasil: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2016.
- Brasil. Farmacopéia Brasileira. 5. ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. - Brasília : Ministério da Saúde, 2006. 92 p.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. - Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 190 p.
- Braz AG, Silva AS, Costa VAM, Nabas JMABB. Quebra-Pedra (*Phyllanthus niruri* L): Considerações no Tratamento da Litíase Renal. *Rev. Conexão Eletrônica* 2015; 12(1): 1-8.
- Buso-Ramos, Marcelle Marie, Atividade Anti-candida e citotoxicidade do óleo essencial de *Psidium cattleianum* (araçá-amarelo). [tese]. Brasil: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2017
- Cardoso VM. O Microbioma Humano [dissertação]. Portugal: Universidade Fernando Pessoa; 2015.
- Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet*. 2012;13(4):260-270.
- Colombo AL, Guimarães T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. *Rev. Soc. Bras. de Med. Trop*. 2003; 36(5): 599-607.
- Costa KRA, Santiago SB. Mecanismos de resistência da *Candida albicans*. Goiânia: Faculdade

Alfredo Nasser; 2016.

Cruces IL, Patelli THC, Tashima CM, Mello-Peixoto ECT. Plantas medicinais no controle de urolitíase. Rev. Bras. Pl. Med. 2013; 15(4): 780-788.

Escola de Saúde Pública. Plantas Medicinais do Jardim Botânico de Porto Alegre [internet]. Porto Alegre: 2018 [acesso 2019 jul 23]. Disponível em: <https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/carga20190154/17115411-e-book-plantas-medicinais.pdf>

Falcon, Banessa & Fuentes Bazan, Susy & Iturralde, Rosalina & Borsch, Thomas. (2019). Phylogenetic relationships and character evolution in Neotropical *Phyllanthus* (Phyllanthaceae), with a focus on the Cuban and Caribbean taxa. International Journal of Plant Sciences. 10.1086/706454.

Feiria, SNB. Avaliação do efeito antifúngico e inibição de fatores morfológicos em *Candida spp.* por espécies de *Mentha* [dissertação]. Brasil: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2015.

Fukuda EK, Vasconcelos AFD, Matias AC, Barbosa AM, Dekker RFH, Silva MLC. Polissacarídeos de parede celular fúngica: purificação e caracterização. Semina: Ciências Agrárias 2009; 30(1): 117-134.

Gajdács M, Dóczy I, Ábrók M, Lázár A, Burián K. Epidemiology of candiduria and *Candida* urinary tract infections in inpatients and outpatients: Results from a 10-year retrospective survey. Central European Journal of Urology 2019; 72(2): 209-214.

Germano VE, Xavier CMR, Jales MMS, Albuquerque TVG, Lima ELF, Ribeiro LH. Microrganismos habitantes da cavidade oral e sua relação com patologias orais e sistêmicas: Revisão de literatura. Rev. Nova Esperança 2018; 16(2): 91-99.

Girach RD, Siddioui PA, Khan SA. Traditional plant remedies among the kondh (Orissa). Int. J. Pharmacol, 1994; 32: 274-283.

Gorski F, Corrêa CR, Filho VC, Yunes RA, Calixto JB. Potent antinociceptive activity of a hydroalcoholic extract of *Phyllanthus corcovadensis*. J. Pharm. Pharmacol. 1993; 45: 1046-1049.

Huang CB, George B, Ebersole JL. Antimicrobial activity of n-6, n-7 and n-9 fatty acids and their esters for oral microorganisms. Archives of oral biology. 2010; 55: 555-560.

Kassuya CAL, Silvestre AA, Rehder VLG, Calixto JB. Anti-allodynic and anti-oedematogenic properties of the extract and lignans from *Phyllanthus amarus* in models of persistente inflammatory and neuropathic

pain. European Journal of Pharmacology 2003; 478: 145-153.

Kaur N, Kaur B, Sirhindi G. Phytochemistry and Pharmacology of *Phyllanthus niruri* L.: A Review. Phytother Res. 2017; 31(7): 980-1004.

Lamont RJ, Jenkinson HF. Oral microbiology at a glance. Inglaterra (Oxford): John Wiley e Sons: 2010; 85p.

Leão AFM, Güez CM, Duarte JA, Schmitt EG, Quintana LD, Zambrano, et al. Avaliação dos efeitos anti-genotóxicos *Phyllanthus niruri* (Euphorbiaceae) em leucócitos humanos expostos a agente agressor. Revista Saúde 2017; 43(1): 133-139.

Lee S K, Li PT, Lau DT, Yung PP, Kong RY, Fong W F. Phylogeny of medicinal *Phyllanthus* species in China based on nuclear ITS and chloroplast atpB-rbcL sequences and multiplex PCR detection assay analysis. Planta Med. 2006; 72: 721-726.

Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p. 428.

Marques LC. *Phyllanthus niruri* (Quebra-Pedra) no Tratamento de Urolitíase: Proposta de Documentação para Registro Simplificado como Fitoterápico. Revista Fitos 2010; 5(3): 20-33.

Martins ER, Lima LR, Cordeiro I. *Phyllanthus* (Phyllanthaceae) no estado do Rio de Janeiro. Rodriguésia, 2014; 65(2): 405-424.

Martins ER. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae) na região sudeste do Brasil [dissertação]. Brasil: Universidade Federal de São Carlos, 2013.

Martins TVF, Almeida PSVB, Oliveira LL, Amaro MOF, Dal Prá V, Mazutti M, et al. Atividade antibacteriana de *Brassica oleracea* var. *capitata* em modelos experimentais in vitro. Rev. Monografias ambientais (REMOA-UFSM) 2012; 9(9): 2088-2100.

Menezes EA, Vasconcelos Júnior AA, Cunha FA, Cunha MCSO, Braz BHL, Capelo LG et al. Identificação molecular e suscetibilidade antifúngica de *Candida parapsilosis* isoladas no Ceará, Brasil. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial 2012; 48(6): 415-420.

Messias MCTB, Menegatto MF, Prado ACC, Santos BR, Guimarães MFM. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. Rev. Bras. Pl. Med. 2015; 17(1): 76-104.

Nascimento JE. Estudo comparativo de três

espécies de *Phyllanthus* (Phyllanthaceae) conhecidas por quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L., *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn. e *Phyllanthus tenellus* Roxb.) [tese]. Brasil: Universidade Federal de Pernambuco; 2008.

Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* biofilms and human disease. *Annu Rev Microbiol.* 2015; 69: 71-92

Nunes FRS, Dias HMC, Cavalcante GM. Investigação das atividades antioxidante e antimicrobiana de duas espécies arbóreas ocorrentes no bioma caatinga. *Rev. Estação Científica (UNIFAP)* 2016; 6 (1): 81-90.

Oliveira BED, Sousa GSS, Melo HD, Pereira JF, Alves LA, Lorenzo VP. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antibacteriana de *Phyllanthus Niruri* (Quebra - Pedra) em *Escherichia coli*. In: Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação 7 2012 out 19-21; Palmas, Tocantins.

Oliveira FF. Efeito dos extratos aquoso e etanólico de *Phyllanthus niruri* Linn. (quebra-pedra) sobre o testículo, próstata, fígado e rins de ratos wistar adultos: avaliação histopatológica, histomorfométrica e hormonal [tese]. Brasil: Universidade Federal Rural de Pernambuco; 2016.

Oliveira TR. Avaliação da toxicidade “*in vivo*”, atividade antifúngica e efeito anti-proliferativo do óleo essencial de *Melaleuca* spp. (Tea tree, Cajuput e Naiuli) sobre espécies do gênero *Candida* [tese]. Brasil: Faculdade de Odontologia de Piracicaba; 2019.

Oliveira VA, Oliveira VMA, Oliveira TWN, Damasceno ANC, Sousa CB, Nogueira TR, et al. Aspectos atuais sobre a utilização da *Phyllanthus niruri* (quebra-pedra) no tratamento da litíase renal. *Revista Eletrônica Acervo Saúde* 2019; 11(15): 1-10.

Peixoto ITA, Sardi JCO, Aníbal PC, Gonçalves RB, Höfling JF. Evidências científicas da colonização de *Candida* spp. em bolsas periodontais. *RFO UPF* [online]. 2010; 15(2): 177-182.

Purisco SU. Prevalência e sensibilidade a antifúngicos de espécies de *Candida* pouco frequentes como agentes de candidemia [dissertação]. São Paulo: Coordenadoria de Controle de Doenças; 2010.

Queiroga GMT. Plantas medicinais e fitoterápicas como alternativa terapêutica às infecções urinárias: um diagnóstico dessa realidade na saúde pública de Mossoró [dissertação]. Brasil: Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2015.

QUINDÓS, G.; MARCOS-ARIAS, C.; SAN-

MILLÁN, R.; MATEO, E.; ERASO, E. The continuous changes in the aetiology and epidemiology of invasive candidiasis: from familiar *Candida albicans* to multiresistant *Candida auris*. *International Microbiology*, v. 21, n. 3, p. 107-119, 2018.

Rehder VLG, Melo LV, Kohn LK, Carvalho JE, Antonio MA, Silvestre A, Santos AS. Atividade antiproliferativa de lignanas isoladas de *Phyllanthus amarus* Schum. e Thonn. Poços de Caldas: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; 2003.

Revie Nm, Iyer Kr, Robbins N, Cowen Le. Antifungal drug resistance: evolution, mechanisms and impact. *Current Opinion in Microbiology* 2018; 45: 70-76.

Ruiz LS, Pereira VBR. Importância dos fungos no ambiente hospitalar. *Bol. Inst. Adolfo Lutz* 2016; 26 (2): 1-3.

Sá Silva FS, Ferreira TM, Teodoro GR, Costa ACBP, Maria A, Beltrame Junior M, et al. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* frente a cepas de *Candida albicans* e *Candida tropicalis* isoladas de infecções nosocomiais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 2009; 68(3): 434-441.

Salomé JR. Análise fitoquímica dos princípios ativos, filantina, hipofilantina e niranina da quebra-pedra (*Phyllanthus amarus* Schumach & Thonn), sob condições de déficit hídrico [dissertação]. Brasil: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”; 2007.

Santana DP, Ribeiro EL, Menezes ACS, Naves PLF. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. *Rev. Ciênc. Méd. Biol.* 2013; 12(2): 229-233.

Santos AE. Extração de compostos bioativos do jambolão (*Syzygium Cumini* (L.) Skeels) a baixas pressões e livre de solvente orgânico [dissertação]. Brasil: Universidade Federal de Santa Catarina; 2017.

Santos Primo RG dos. Caracterização do potencial biotecnológico do *Crambe abyssinica* na alimentação de ruminante [dissertação]. Brasil: Universidade Federal da Grande Dourados; 2013.

Sarin B, Verma N, Martín JP, Mohanty A. An overview of important ethnomedicinal herbs of *Phyllanthus* species: Present status and future prospects. *The Scientific World Journal* 2014; 2014 (1): 1-12.

Sender R, Fuchs S, Milo R (2016) Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol* 14:e1002533

Silva AKF, Lisboa JES, Barbosa MPS, Lima AF.

Infecções urinárias nosocomiais causada por fungo do gênero *Candida*: uma revisão. Ciências Biológicas e da Saúde 2014; 2 (1): 45-57.

Silva ASM. Microbioma Oral O seu papel na saúde e na doença [dissertação]. Brasil: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias; 2016.

Silva FM. Potencial antifúngico de extratos de plantas medicinais do cerrado brasileiro [dissertação]. Brasil: Universidade de Brasília; 2008.

Silva GM. Candidíase oral: sintomas, diagnósticos e tratamentos [trabalho de conclusão de curso]. Brasil: Faculdade de Educação e Meio Ambiente; 2013.

Silva MJ, Sales ME. O gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae - Euphorbiaceae Juss.) no bioma Caatinga do estado de Pernambuco-Brasil. Rodriguésia, 2004; 55(84): 101-126.

Sunitha J, Krishna S, Ananthalakshmi R, Jeeva JS, Smiline Girija AS, Jeddy N. Antimicrobial effect of leaves of *Phyllanthus niruri* and *Solanum nigrum* on caries causing bacteria: An in vitro study. Journal of Clinical and Diagnostic Research 2017; 11(6): KC01-KC04.

Torres DSC, Cordeiro I, Giulietti AM. O gênero *Phyllanthus* L. (Euphorbiaceae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. Acta Botanica Brasilica 2003; 17 (2): 265- 278.

Tyagi T, Agarwal M. Phytochemical screening and GC-MS analysis of bioactive constituents in the ethanolic extract of *Pistia stratiotes* L. and *Eichhornia crassipes* (Mart.) solms. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2017; 6(1): 195-206.

Venturi S, Randi AM. Influência da coloração das sementes na germinação de *Phyllanthus tenellus* Roxb. e *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). Acta Bot. Bras. 1997; 11(1): 87-94.

Weber TK, Polanco I. Gastrointestinal Microbiota and Some Children Diseases: A Review. Gastroenterology Research and Practice 2012; 2012: 1-12.

Wilson D. *Candida albicans*. Trends in Microbiology, v. 27, n.

Review Article

A COMPREHENSIVE REVIEW ON CITRUS AURANTIFOLIA ESSENTIAL OIL: ITS PHYTOCHEMISTRY AND PHARMACOLOGICAL ASPECTS

Authors: Shagun Jain¹, Poonam Arora^{1,A}, Harvinder Popli^{2,B}

¹Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, School of Pharmaceutical Sciences, Delhi Pharmaceutical Sciences and Research University, New Delhi, India. ²Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Sciences, Delhi Pharmaceutical Sciences and Research University, New Delhi, India.

Article ID

Key words:

Citrus essential oil, monoterpenes, limonene, antifungal, antioxidant.

Abstract

Citrus essential oil, commonly, known as lime oil, has been widely reported in traditional system of medicine. Industrially, oil is isolated by mainly by hydrodistillation from fruit and peel of *Citrus aurantifolia*, family, Rutaceae. Cultivation practice of citrus plants dates back for over 4000 years and are one of most valuable fruit crops in the world. In this review, we aim to summarise the phytochemical and biological properties of citrus oil. The literature was collected from various online resources such as e journals, books and magazines. The citrus essential oil is globally used in food industry to impart citric flavour and odour to cuisines. Lime juice and oil is known to possess multiple biological properties including anti-cancer, antimicrobial, antioxidant, antiulcer, anti-inflammatory, hypolipidemic, antityphoid and hepatoprotective properties. Due to potent antibacterial and antifungal properties, citrus oil is becoming important component of skin care products. The medicinal importance of plant is due to presence of various secondary metabolites, alkaloids, carotenoids, coumarins, essential oils, flavonoids, phenolic acids, and triterpenoids. The citrus oil is rich in aromatic compounds namely, monoterpenes and

^ACorresponding author:

Poonam Arora, Associate Professor (Temporary faculty), Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, School of Pharmaceutical Sciences, Delhi Pharmaceutical Sciences and Research University, New Delhi, India. E-mail: poonamarora96@gmail.com - <https://orcid.org/0000-0002-4118-8180>. Contact no.: 91-9811551378.

^BCorresponding author:

Harvinder Popli, Dean and Professor, Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Sciences, Delhi Pharmaceutical Sciences and Research University, New Delhi, India. E. mail: popli.harvinder@gmail.com - <https://orcid.org/0000-0001-9030-5462>. Contact no.: 91-98997 00704.

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.101> - Article received on July 01 , 2020; Accepted on July 07, 2020; published on 23 July 2020 in the Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.2, online, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. All authors contributed equally to the article. The authors declare that there is no conflict of interest. This is an open access article under the CC - BY license: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.

their derivatives, aldehydes, ketones, esters, alcohols such as limonene (58.4%), β -pinene (15.4%), γ -terpinene (8.5%), citral (4.4%) and others. The bitter taste and aroma of citrus fruit peels is attributed to limonoids. *p*-caryophyllene constitute 5.7% of all the sesquiterpenes. On the basis of the available information, we conclude that citrus oil possess huge potential to be developed into pharmaceutical products.

Introduction

The genus *Citrus* (Rutaceae) is one of the most widely consumed and economic important group (1). The global production of citrus fruits has significantly increased to 82 million tons in the years 2009–2010 (2). Around 70% of the world's total marketable citrus are grown in the America, Brazil, Mediterranean countries. Of these, India is the world's largest producer of different varieties of limes (Table 1) while China produces most of the world's mandarins an important variety of lime (3,4). Citrus products are a rich source of vitamins, minerals and dietary fibers that are essential for growth and development of body. The fruits possess

anti-cancer (5), antimicrobial, antioxidant (6), antiulcer, anti-inflammatory, and hypolipidemic, antityphoid and hepatoprotective (7) properties. The essential oils contain many volatile compounds, mainly aldehydes, ketones, esters, alcohols and terpenes, which give the characteristic aromas and flavours of the citrus fruits. Because of their nutritional values and pleasant aromas, some of citrus fruit juices are used as functional drink (3, 8). Limonoids are the principal compounds found in citrus fruit peels where they produce the bitter taste and the zest aroma (9–11). Citrus-peel essential oils are amongst the most important of these, including orange, lemon, mandarin, tangerine and grapefruit oils are leading oils in terms of volume (12,13).

Table 1. Some popular varieties of citrus

S. No.	Variety	Reference
1	Sweet oranges (<i>Citrus sinensis</i> Osbeck)	(14)
2	Mandarins (<i>Citrus reticulata</i> Blanco)	(15,16)
3	Grapefruits (<i>Citrus paradisi</i> Macfadyen)	(17)
4	Lemons (<i>Citrus limon</i> Burmann)	(18)
5	Limes (<i>Citrus aurantifolia</i> Swingle)	(19)

Chemical constituents

The peculiar phytochemical composition of the peel and leaf oils of *C. aurantifolia* suggest use of the essential oils as a characteristic taxonomic marker for species (20) (Table 2, Fig. 1). The phytochemistry of citrus oil has been studied extensively by many researchers. GC-FID and GC-MS of hydrodistilled essential oil of *C. aurantifolia*, shows presence of limonene (58.4%), β -pinene (15.4%), β -terpinene (8.5%), and citral (4.4%) as the major constituents (21). Some exclusive terpenes such as the sesquiterpene santal-10-en-2-ol have been identified in the lime

peel oil (22). An oxygenated monoterpene, fenchol, has also been isolated in *C. aurantifolia* (23,24). Some other mono- and sesquiterpene hydrocarbons and oxygenated monoterpenes such as β -pinene, neryl acetate, geranyl acetate, β -bisabolene, (*E*)- α -bergamotene, germacrene D and β -caryophyllene (25) have also been reported in *C. aurantifolia*. In addition, lime oil also contain coumarins which are known to cause phototoxic reaction in humans. In experimental animals, these coumarins were found to promote tumour formation on skin and abdominal epithelium of mice induced by 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene and benzo-[a]-pyrene (26–28).

***C. aurantifolia* peel oil**

The chemical composition of *C. aurantifolia* peel oil is very similar to that of *C. hystrix*, a Malaysian citrus species with presence of monoterpenes (94.6%). The two most abundant compounds were limonene (39.3%) and *p*-pinene (28.4%). However, the former can be distinguished by the presence of relatively high concentrations of geraniol (7.5%), neral (5.3%) and geranial (2.1%), citronellal (0.1%) with absolute absence of citronellol. GC-MS analysis of some species of citrus, *C. hystrix* D.C., *C. aurantifolia* Swingle, *C. maxima* Merr. and *C. microcarpa* Bunge, revealed that *C. hystrix* peel oil comprises mainly of monoterpenes (97.2%) with *p*-pinene (39.3%), limonene (14.2%), citronellal (11.7%) and terpinen-4-ol (8.9%) as the major components. Other monoterpenes present in appreciable amounts include α -terpineol (3.0%), terpinene (2.4%), α -pinene (2.0%), linalool (1.9%) and furanoid cis-linalool oxide (1.9%). 17 sesquiterpenoids in small quantities constituting 2.6% of the oil have also been identified in the lime essential oil. Myrcene, is present at 1.6% and 1.8% concentrations in the peel oils of *C. maxima* and *C. microcarpa*. In comparison, peel oils of *C. maxima* and *C. microcarpa* contained more than 94% of monoterpene hydrocarbon,

limonene, and could be one of the important natural sources of limonene.

***C. aurantifolia* leaf oil**

The leaf oil of *C. aurantifolia* contain the highest concentration of monoterpenes amongst other species of citrus. Geranial (19.4%), limonene (16.4%), neral (11.4%), nerol (9.5%), geraniol (7.5%) and geranyl acetate (6.6%) are the major constituents of the leaf oil of *C. aurantifolia*. Sesquiterpenes present in amounts greater than 1% concentration are *p*-caryophyllene (5.7%), (*Z*)-nerolidol (2.0%), (*Z*)-*p*-farnesene (1.8%) and *p*-elemene (1.6%). whilst, the leaf oil of *C. hystrix* contains mainly citronellal (72.4%) and related compounds, citronellol (6.7%) and citronellyl acetate (4.1%). Of the other 39 components present in the leaf oil of *C. hystrix*, only *p*-pinene (1.9%), linalool (1.7%) and trans-sabinene hydrate (1.5%) are present at greater than 1% concentration. Sesquiterpenes accounts for only 4.5% of the oil. In contrast, *C. macrocarpa* leaf oil possess more than 70.8% sesquiterpenes with hedycaryol (19.0%), *p*-sesquiphellandrene (18.3%), α -eudesmol (14.4%) and *p*-eudesmol (8.6%). While, *p*-pinene (13.4%), linalool (6.1%) and (*E*)-*p*-ocimene (2.0%) are main the monoterpenes *C. macrocarpa* leaf.

Table 2. List of phytochemicals in *C. aurantifolia*

S. No.	Type	Compounds	Reference
1	Sugars	Glucose, fructose and sucrose (1-15%)	(10,29,30)
2	Polysaccharides	Cellulose, hemicelluloses and pectin	(31)
3	Organic acids	Citric and malic acids with small quantities of succinic, malonic, lactic, oxalic, phosphoric, tartaric, adipic and isocitric acids	(20,32)
4	Lipids	Phospholipids (0.1%), palmitic, palmitoleic, oleic, linoleic and linolenic acids	(14,33)
5	vitamins	Ascorbic acid, thiamine, riboflavin, niacin, pantothenic acid, inositol, biotin, vitamin A, vitamin K, pyridoxine, paminobenzoic acid, choline and folic acid	(33)
6	Inorganic elements	Potassium and nitrogen (80%), calcium, iron, phosphorus, magnesium and chlorine	(34)
7	Flavonoids	Flavanones, flavones and anthocyanins	(1,31,35)
8	Limonoids	Limonene	(36,37)
9	Volatile compound	Limonene	(21,38)

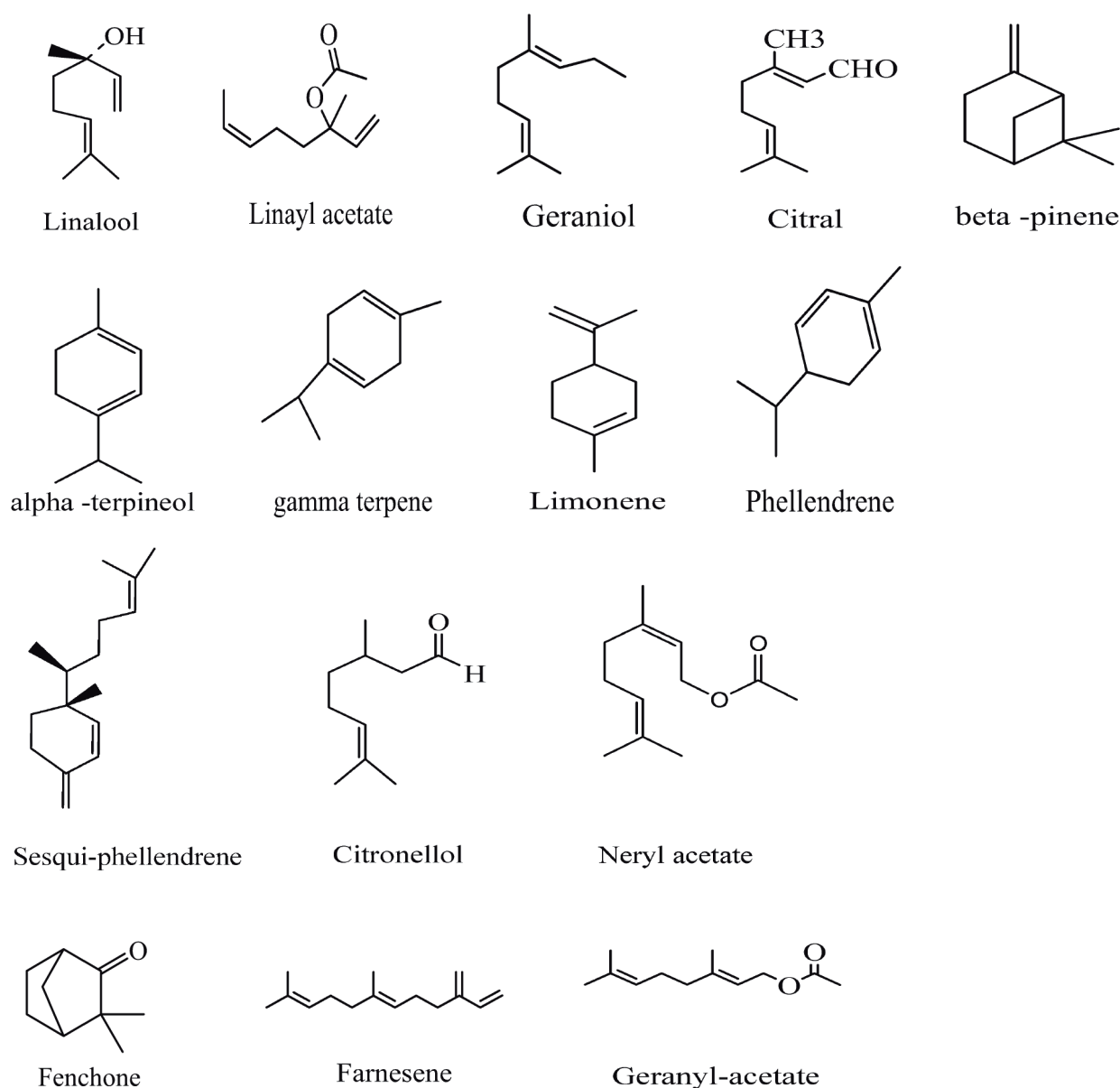


Fig. 1. Structures of major chemical constituents present in *C. aurantifolia* essential oil

Health Benefits of phytochemicals isolated from Citrus

Citrus is rich in flavonoids including apigenin, rutin, quercetin, kaempferol, nobiletin, hesperidin, hesperitin, and neohesperidin. Quercetin, has been reported as one of the most active flavonoids that possess significant anti-inflammatory, anti-tumor, anticancer, anti-prostatitis, anti-allergic and anti-asthmatic (31,39-43). Carotenoids found in citrus are β -carotene, lutein, zeaxanthin and cryptoxanthin (44,45). Presence of vitamin C in citrus enhances its medical applicability in treatment of stress, cold,

chills, muscle fatigue and scurvy (40, 46–50).

Pharmacological activities of *C. aurantifolia*

Pharmacological activities of the extract of different parts of *C. aurantifolia* have been studied. The plant possesses the numerous biological activities described below:

Antibacterial activity

Antimicrobial activity of citrus oil against several pathogens, including, *S. aureus*, *Escherichia coli*,

Klebsiella pneumonia, *Pseudomonas* spp, *A. niger* and *C. albicans*, has extensively been studied (28,51–55). Hydrodistilled lime oil (12.25-100 µg/ml) possess potent antibacterial activity against gram positive compared to gram negative strains (56). The values of zone of inhibition (ZOI) recorded for lime essential oil against some microbes investigated in study were, *S. aureus* (10 to 20 mm), *Enterococcus faecalis* (26 mm), *Salmonella* spp. (6-10 mm) and *C. albicans* (24 mm). The oil demonstrates powerful results in isoniazid-resistant strain of Mycobacteria that suggest probably, oil could have role in overcoming antimicrobial resistance (57,58). The antibacterial activity of *C. aurantifolia* has been attributed to the presence of phytochemicals, 5, 8-dimethoxypsoralen, 5-geranyloxypsoralen, palmitic acid, linoleic acid, oleic acid, 4-hexan-3-one and citral (58).

Abubakar U Zage found that citrus ethanolic extract (2.125-20 mg/ml) shows significant activity against clinical isolates of *Shigella*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella*. The study indicated that *Shigella* was more sensitive to the extract with average zone of inhibition of 14.90 mm, followed by *Klebsiella* (14.49 mm), *E. coli* (13.77 mm) and *S. typhi* (12.01 mm) (59–61). In comparison, citrus peel methanolic extract is potent against *S. aureus* at concentration 31.25 µg/ml, while ethyl acetate extract is effective at higher concentration, 250-750 µg/ml (62).

Antifungal

The oil is becoming an important component of dermatological formulations used in skin and scalp diseases (63). Antifungal effects of citrus oil has been studied against *Malassezia furfur* in *in vitro* model using disk diffusion method. In a study, oil elicited fungistatic effects in a dose dependent manner with zone of inhibition of 2.6 mm at minimum inhibitory concentration (MIC) 2 mg/ml when compared to oil-untreated culture (64,65). Lime essential oil at 2 mg/ml was found to inhibit growth of *M. furfur*, KCCM 12679 cultured on sabrouds dextrose agar media with incubation temperature 37°C for 2-7 days, ZOI was found to be 2.6 mm when compared with reference standard (66).

In some studies, *A. niger* have shown explicitly high susceptibility to oil isolated from lime leaves (55). Matan. N. concluded that limonene in lime oil inhibits the growth of *A. niger* cultured in potato dextrose

agar medium at 70°C. Additionally, monoterpene hydrocarbon, at MIC 90 µl/ml, also showed synergistic activity with other secondary metabolites present in lime oil (67, 68). Due to antifungal activity of citrus, the plant may be a potential candidate for use in agriculture and food industry for protection against aflatoxin contamination. The effects of lime essential oil on some species of molds has been determined by Matan and Matan. At concentration, 20–200 µl/ml, the oil was found to be fungistatic as well as fungicidal on the test species. Lime oil was effective at 100 µl/ml against *P. chrysogenum* and *Penicillium* sp. while *A. niger* was susceptible at only higher concentrations of lime oil (140 µl/ml). The MIC values performed by the broth dilution of all conditions were examined (70).

Anti-obesity activity

Co-administration of *C. aurantifolia* essential oil with ketotifen in wistar mice suppressed weight gain in animals. The weight loss was described due to possibility of promoting anorexia, reduction in both the amount of food intake compared with the control group. (71)

Anticancer/cytotoxic activity

C. aurantifolia fruit from Texas, USA, consists of at least 22 volatile compounds, and its major compounds limonene (30%) and dihydrocarvone (31%) and five active components of *C. aurantifolia* seeds such as limonin, limonexic acid, isolimonexic acid, β-sitosterol glucoside, and limonin glucoside. Patil and group reported that 100 µg/ml extract of *C. aurantifolia* inhibits the growth of colon SW-480 cancer cell in 78% after 48 h of exposure. It increased level of caspase-3. (72). They also reported that *C. aurantifolia* extract can stop the growth of pancreatic Panc-28 cancer cells with inhibitory concentration 50%, IC₅₀, 18–42 µM. Among all the phytochemical tested in study, the order of apoptosis was isolimonexic acid > limonexic acid > sitosterol glucoside > limonin > limonin glucoside, based on the expression ratio of Bax/Bcl-2) (73).

Antioxidant property

Both fruit and peel juice of *Citrus aurantifolia* posses numerous flavonoids that contribute to

antioxidant effects of plant. Lime juice and peel inhibits LDL oxidation in a dose dependent manner. At 234 nm polyphenolic extract solution of fresh lime juice (0-40 µl) prepared in DMSO, showed significant antioxidant property measured by lowry method (74). Patil and group revealed that freeze-dried lime juice extracted with different solvents, such as chloroform, acetone, methanol and methanol/water (8:2). The chloroform extract showed the highest (85.4 and 90%) radical-scavenging activity analysed by 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) and 2,20 -azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) methods at 624 µg/ml (72). Limonoids possess the ability to inhibit tumor formation by stimulating the enzyme glutathione S-transferase (GST), enzyme that catalyzes the reaction of glutathione (75). Endogenously produced radical oxygen species (ROS) perpetuate ongoing inflammation that is a major factor in airway remodelling in asthma. Vitamin C is a major antioxidant present in airways. The plants enriched with phenolics and ascorbic acid have shown promising results in counteracting the radical production in lungs, thereby, indicating prophylactic role of plant in several diseases including, asthma (76-80). Concentrated juice of *C. aurantifolia* cv. swingle (Lime) at 250 µg/l, is able to significantly inhibit proliferation of phytohaemagglutinin activated mononuclear cells suggesting immunomodulating activity of plant that suggests immuno-modulatory property of plant (81, 82).

Anti-cholinesterase activity

The essential oils isolated from some species of *C. aurantifolia* and *C. aurantium* have shown significant inhibitory activity on AChE and BChE with IC50 values of 139.3-147.5 µg/ml and 235.5 to 266.6 µg/ml respectively (83, 84).

Anti-fertility activity

In experimental animals, oral administration of undiluted lime juice to Sprague-Dawley female rats has shown to compromise fertility by partially blocking ovulation, ova formation (5.10 +/- 2.37) in comparison with the control animals (12.70 +/- 1.14) (85).

Cardiovascular activity

C. aurantifolia is used in African folk medicine for the management of hypertension. The effect was validated in ex vivo studies conducted on isolated heart of rabbit. Aqueous extract of *C. aurantifolia* (10-80 mg/ml-10-20 mg/ml) produced both negative inotropic and chronotropic effects on the heart induced a dose-dependent relaxation of contractions produced by adrenalin (3.10-3 mM) and KCl (80 mM) (86). In cadmium induced hypertensive model of spargue dawley rats, *C. aurantifolia* fruit extract, 0.75 g/kg, was able to successfully reduce both diastolic and systolic blood pressure (87).

Conclusion

C. aurantifolia is valued for its nutritional qualities and numerous health benefits. The innumerable health benefits of *C. aurantifolia* and its essential oil are attributed to multitude of bioactive compounds including terpenes and phenolic components. This opens new horizons for development of essential oils into pharmaceutical products. However, lack of scientific evidence to confirm medicinal value warrants need of huge research in this direction.

References

1. Lu Y, Zhang C, Bucheli P, Wei D. Citrus flavonoids in fruit and Traditional Chinese Medicinal food ingredients in China. *Plant Foods Hum Nutr.* 2006;61(2):57-65.
2. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 2006 Jan 1;99(1):191-203.
3. Kelebek H, Selli S. Determination of volatile, phenolic, organic acid and sugar components in a Turkish cv. Dortyol (*Citrus sinensis* L. Osbeck) orange juice. *J Sci Food Agric* 2011 Aug 15 91(10):1855-62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21480267/>
4. Matheyambath AC, Padmanabhan P, Paliyath G. Citrus Fruits. In: *Encyclopedia of Food and Health.* Elsevier Inc.; 2015. p. 136-40.
5. Ballistreri G, Fabroni S, Romeo FV, Timpanaro N, Amenta M, Rapisarda P. Anthocyanins and Other Polyphenols in Citrus Genus: Biosynthesis, Chemical

Profile, and Biological Activity. In: Polyphenols in Plants. Elsevier; 2019. p. 191–215.

6. Ladaniya MS. Nutritive and Medicinal Value of Citrus Fruits. In: Citrus Fruit. Elsevier; 2008. p. 501–14.

7. Al-Snafi AE, Thuwaini MM. Arabian Medicinal Plants with Hepatoprotective Activity.

8. Rafiq S, Kaul R, Sofi SA, Bashir N, Nazir F, Ahmad Nayik G. Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. Vol. 17, Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. King Saud University; 2018. p. 351–8.

9. Hasegawa S, Miyake M. Biochemistry and biological functions of citrus limonoids. Food Rev Int. 1996;12(4):413–35.

10. Roy A, Saraf S. Limonoids: Overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. Vol. 29, Biological and Pharmaceutical Bulletin. Pharmaceutical Society of Japan; 2006. p. 191–201.

11. Gualdani R, Cavalluzzi MM, Lentini G, Habtemariam S. The chemistry and pharmacology of citrus limonoids Vol. 21, Molecules. MDPI AG; 2016 [cited 2020 Jun 26]. Available from: /pmc/articles/PMC6273274/?report=abstract

12. Schwab W, Davidovich-Rikanati R, Lewinsohn E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds Vol. 54, Plant Journal. Plant J; 2008. p. 712–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18476874/>

13. Sensory evaluation of citrus peel essential oils as flavouring agents in various food products [cited 2020 Jun 29]. Available from: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PK2007000803>

14. Moufida S, Marzouk B. Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. Phytochemistry 2003 Apr 1 62(8):1283–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12648552/>

15. Basak A, Chakraborty R, Mandal SM. Recent trends in antifungal agents and antifungal therapy. Recent Trends in Antifungal Agents and Antifungal Therapy. Springer India; 2016. 1–250 p.

16. Monfalouti H El, Guillaume D, Denhez C, Charrouf Z. Therapeutic potential of argan oil: A review. Vol. 62, Journal of Pharmacy and Pharmacology. Blackwell Publishing Ltd; 2010. p. 1669–75.

17. Potential of Essential Oils - Google Available

from: <https://books.google.co.in/books?id=Dm->

18. Vekiari SA, Protopapadakis EE, Papadopoulou P, Papanicolaou D, Panou C, Vamvakias M. Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a cretan lemon variety. J Agric Food Chem. 2002;50(1):147–53.

19. Al-Snafi DAE. Nutritional value and pharmacological importance of citrus species grown in Iraq. IOSR J Pharm. 2016;06(08):76–108.

20. Jantan I, Ahmad AS, Ahmad AR, Ali NAM, Ayop N. Chemical composition of some citrus oils from Malaysia. J Essent Oil Res 1996 Nov 8(6):627–32. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.1996.9701030>

21. González-Mas MC, Rambla JL, López-Gresa MP, Amparo Blázquez M, Granell A. Volatile compounds in citrus essential oils: A comprehensive review. Vol. 10, Frontiers in Plant Science. Frontiers Media S.A.; 2019.

22. Lota ML, De Rocca Serra D, Tomi F, Jacquemond C, Casanova J. Volatile components of peel and leaf oils of lemon and lime species. J Agric Food Chem 2002 Feb 13 50(4):796–805. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf010924l>

23. Selvaraj Y, Prasad MBNV, Venkateshwarlu G. Profiles of essential oils of peel and leaf of a new citrus hybrid, citrus latifolia tanaka x citrus aurantifolia swingle. J Essent Oil Res 2002 14(5):369–71. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2002.9699887>

24. Chisholm MG, Jell JA, Cass DM. Characterization of the major odorants found in the peel oil of Citrus reticulata Blanco cv. Clementine using gas chromatography-olfactometry. Flavour Fragr J. 2003 Jul;18(4):275–81.

25. Minh Tu NT, Thanh LX, Une A, Ukeda H, Sawamura M. Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and lime peel oils. Flavour Fragr J 2002 May 1 17(3):169–74. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ffj.1076>

26. Al-Aamri MS, Al-Abousi NM, Al-Jabri SS, Alam T, Khan SA. Chemical composition and in-vitro antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil of Citrus aurantifolia L. leaves grown in Eastern Oman. J Taibah Univ Med Sci. 2018 Apr 1;13(2):108–12.

27. Ali B, Al-Wabel NA, Shams S, Ahamad A, Khan SA, Anwar F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. Vol. 5, Asian Pacific Journal of

Tropical Biomedicine. Hainan Medical University; 2015. p. 601–11.

28. Pathan R khan, Gali PR, Pathan P, Gowtham T, Pasupuleti S. In vitro Antimicrobial Activity of Citrus aurantifolia and its Phytochemical screening. *Asian Pacific J Trop Dis*. 2012;2(SUPPL.1).

29. Ranganna S, Govindarajan VS, Ramana KVR. Citrus fruits — varieties, chemistry, technology, and quality evaluation. Part II. Chemistry, technology, and quality evaluation. *A. Chemistry. C R C Crit Rev Food Sci Nutr* 1983 18(4):313–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6354594/>

30. Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, Ishii T, Yano M, Ohta H. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006 Jan 70(1):178–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16428836>

31. Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, Ishii T, Yano M, Ohta H. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006 Jan 70(1):178–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16428836>

32. Adokoh CK, Asante DB, Acheampong DO, Kotsuchibashi Y, Armah FA, Sirikiyi IH, et al. Chemical profile and in vivo toxicity evaluation of unripe Citrus aurantifolia essential oil. *Toxicol Reports*. 2019 Jan 1;6:692–702.

33. Baldwin EA. Citrus fruit. In: *Biochemistry of Fruit Ripening* Springer Netherlands; 1993. p. 107–49. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-1584-1_4

34. Sunday Enejoh O, Oladejo Ogunyemi I, Smart Bala M, Sotonye Oruene I, Musa Suleiman M, Folorunsho Ambali S. Ethnomedical Importance of Citrus Aurantifolia (Christm) Swingle. *Pharma Innov J*. 2015;4(8):1–6.

35. Benavente-García O, Castillo J. Update on uses and properties of citrus flavonoids: New findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. Vol. 56, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. p. 6185–205.

36. Hamdan D, El-Readi MZ, Tahrani A, Herrmann F, Kaufmann D, Farrag N, et al. Secondary Metabolites of Ponderosa Lemon (*Citrus pyriformis*) and their Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activities. *Zeitschrift für Naturforsch C*. 2011;66:0385.

37. Hamdan D, El-Readi MZ, Tahrani A, Herrmann F, Kaufmann D, Farrag N, et al. Chemical

composition and biological activity of Citrus jambhiri Lush. *Food Chem*. 2011 Jul 15;127(2):394–403.

38. Arraiza MP, González-Coloma A, Andres MF, Berrocal-Lobo M, Domínguez-Núñez JA, Jr ACDC, et al. Antifungal Effect of Essential Oils. In: *Potential of Essential Oils* InTech; 2018. Available from: <http://www.intechopen.com/books/potential-of-essential-oils/antifungal-effect-of-essential-oils>

39. Yu X, Lin H, Wang Y, Lv W, Zhang S, Qian Y, et al. D-limonene exhibits antitumor activity by inducing autophagy and apoptosis in lung cancer. *Onco Targets Ther* 2018 Apr 4 [cited 2020 Jun 28];11:1833–47. Available from: </pmc/articles/PMC5894671/?report=abstract>

40. Lv X, Zhao S, Ning Z, Zeng H, Shu Y, Tao O, et al. Citrus fruits as a treasure trove of active natural metabolites that potentially provide benefits for human health Vol. 9, *Chemistry Central Journal*. BioMed Central Ltd.; 2015. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26705419/>

41. Kawaii S, Tomono Y, Katase E, Ogawa K, Yano M, Koizumi M, et al. Quantitative study of flavonoids in leaves of Citrus plants. *J Agric Food Chem*. 2000;48(9):3865–71.

42. Ali M. Antibacterial Activity of Citrus Aurantifolia Leaves Extracts Against Some Enteric Bacteria of Public Health Importance. *Mod Approaches Mater Sci*. 2018 Dec 10;1(2).

43. Gattuso G, Barreca D, Gargiulli C, Leuzzi U, Caristi C. Flavonoid composition of citrus juices Vol. 12, *Molecules*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2007 . p. 1641–73. Available from: </pmc/articles/PMC6149096/?report=abstract>

44. Voutilainen S, Nurmi T, Mursu J, Rissanen TH. Carotenoids and cardiovascular health. *Am J Clin Nutr* 2006 Jun 1 [cited 2019 Sep 25];83(6):1265–71. Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article/83/6/1265/4632969>

45. Matsumoto H, Ikoma Y, Kato M, Kuniga T, Nakajima N, Yoshida T. Quantification of carotenoids in citrus fruit by LC-MS and comparison of patterns of seasonal changes for carotenoids among citrus varieties. *J Agric Food Chem*. 2007 Mar 21;55(6):2356–68.

46. Delanghe JR, Langlois MR, De Buyzere ML, Torck MA. Vitamin C deficiency and scurvy are not only a dietary problem but are codetermined by the haptoglobin polymorphism. Vol. 53, *Clinical Chemistry*. 2007. p. 1397–400.

47. Granger M, Eck P. Dietary Vitamin C in Human Health. In: *Advances in Food and Nutrition Research* Academic Press Inc.; 2018. p. 281–310. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29477224/>
48. Pecoraro L, Martini L, Antoniazzi F, Piacentini G, Pietrobelli A. Vitamin C: should daily administration keep the paediatrician away? *Int J Food Sci Nutr* 2019 Jun 1970(4):513–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30513006>
49. Kashiouris MG, L'Heureux M, Cable CA, Fisher BJ, Leichtle SW, Fowler AA. The Emerging Role of Vitamin C as a Treatment for Sepsis. *Nutrients* 2020 Feb 22 12(2). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31978969>
50. Schwartz JR, Mesenger AG, Tosti A, Todd G, Hordinsky M, Hay RJ, et al. A comprehensive pathophysiology of dandruff and seborrheic dermatitis - Towards a more precise definition of scalp health. *Acta Derm Venereol.* 2013;93(2):131–7.
51. Dhifi W, Bellili S, Jazi S, Bahloul N, Mnif W. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines.* 2016 Sep 22;3(4):25.
52. Lawal, O. A. Ogunwande IA, Owolabi, M. S. Giwa-Ajeniya, A. O. Kasali, A. A. Abudu, F. A. Sanni, A. A. Opoku AR. Comparative Analysis of Essential Oils of *Citrus aurantifolia* Swingle and *Citrus reticulata* Blanco, From Two Different Localities of Lagos State, Nigeria. *Am J Essent Oils Nat Prod.* 2014;2(2):8–12. Available from: www.essencejournal.com
53. Powers CN, Osier JL, McFeeters RL, Brazell CB, Olsen EL, Moriarity DM, et al. Antifungal and cytotoxic activities of sixty commercially-available essential oils. *Molecules.* 2018;23(7).
54. Dosoky NS, Setzer WN. Biological Activities and Safety of Citrus spp. Essential Oils. *Int J Mol Sci* 2018 Jul 519(7). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29976894>
55. Aibinu I, Adenipekun T, Adelowotan T, Ogunsanya T, Odugbemi T. Evaluation of the antimicrobial properties of different parts of citrus *aurantifolia* (lime fruit) as used locally. *African J Tradit Complement Altern Med*;4(2):185–90. Available from: [/pmc/articles/PMC2816438/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC2816438/?report=abstract)
56. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol*;94(3):223–53. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160504001680>
57. Camacho-Corona M del R, Ramírez-Cabrera MA, Santiago OG-, Garza-González E, Palacios I de P, Luna-Herrera J. Activity against drug resistant-tuberculosis strains of plants used in Mexican traditional medicine to treat tuberculosis and other respiratory diseases. *Phyther Res*;22(1):82–5. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.2269>
58. Sandoval-Montemayor NE, García A, Elizondo-Treviño E, Garza-González E, Alvarez L, Del Rayo Camacho-Corona M. Chemical composition of hexane extract of *Citrus aurantifolia* and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of some of its constituents. *Molecules*;17(9):11173–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22992784/>
59. Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA, Cavaco AM, Antunes MD. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. *Food Sci Technol.* 2014;34(1):16–23.
60. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem Toxicol*;46(2):446–75. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691507004541>
61. Naeini AR, Nazeri M, Shokri H. Inhibitory effect of plant essential oils on *Malassezia* strains from Iranian dermatitis patients. *J HerbMed Pharmacol.* 2018;7(1):18–21.
62. Afroja S, Nessa Falgunee F, Mushkika Jahan M, Mia Akanda K, Mehjabin S, Masud Parvez G. and Health Science Available online at www.sciarena.com. Vol. 2, Science Arena Publications Specialty Journal of Medical research. 2017. Available from: www.sciarena.com
63. Clavaud C, Jourdain R, Bar-Hen A, Tichit M, Bouchier C, Pouradier F, et al. Dandruff Is Associated with Disequilibrium in the Proportion of the Major Bacterial and Fungal Populations Colonizing the Scalp. *PLoS One.* 2013 Mar 6;8(3).
64. Stupar M, Grbić ML, Džamić A, Unković N, Ristić M, Jelikić A, et al. Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects. *South African J Bot.* 2014;93:118–24.
65. Aumeeruddy-Elalfi Z, Gurib-Fakim A, Mahomoodally F. Antimicrobial, antibiotic potentiating activity and phytochemical profile of essential oils from exotic and endemic medicinal

- plants of Mauritius. *Ind Crops Prod.* 2015 Sep 1;71:197–204.
66. Lee J-H, Lee J-S. Inhibitory effect of Plant Essential Oils on *Malassezia pachydermatis*. *J Appl Biol Chem.* 2010 Sep 30;53(3):184–8.
67. Matan N, Matan N, Ketsa S. Enhanced inhibition of *Aspergillus niger* on sedge (*Lepironia articulata*) treated with heat-cured lime oil. *J Appl Microbiol* ;115(2):376–81. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jam.12236>
68. Dongmo PMJ, Tatsadjieu LN, Tchinda Sonwa E, Kuate J, Zollo PHA, Menut C. Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis* Vol. 4, *African Journal of Agricultural Research.* 2009. Available from: <http://www.academicjournals.org/AJAR>
69. Nguefack J, Dongmo JBL, Dakole CD, Leth V, Vismar HF, Torp J, et al. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. *Int J Food Microbiol.* 2009 May 31;131(2–3):151–6.
70. Matan N, Matan N. Antifungal activities of anise oil, lime oil, and tangerine oil against molds on rubberwood (*Hevea brasiliensis*). *Int Biodeterior Biodegrad.* 2008 Jul 1;62(1):75–8.
71. Asnaashari S, Delazar A, Habibi B, Vasfi R, Nahar L, Hamedeyazdan S, et al. Essential oil from *Citrus aurantifolia* prevents ketotifen-induced weight-gain in mice. *Phytother Res*;24(12):1893–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20623616>
72. Patil JR, Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK, Chetti MB, Patil BS. Bioactive compounds from mexican lime (*Citrus aurantifolia*) juice induce apoptosis in human pancreatic cells. *J Agric Food Chem* ;57(22):10933–42. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf901718u>
73. Patil JR, Jayaprakasha GK, Kim J, Murthy KNC, Chetti MB, Nam SY, et al. 5-Geranyloxy-7-methoxycoumarin inhibits colon cancer (SW480) cells growth by inducing apoptosis. *Planta Med*;79(3–4):219–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23345169/>
74. Boshtam M, Moshtaghian J, Naderi G, Asgary S, Nayeri H. Antioxidant effects of *Citrus aurantifolia* (Christm) juice and peel extract on LDL oxidation. *J Res Med Sci* ;16(7):951–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22279465>
75. Ebere Okwu D. CITRUS FRUITS: A RICH SOURCE OF PHYTOCHEMICALS AND THEIR ROLES IN HUMAN HEALTH. Vol. 6, *Int. J. Chem. Sci.* 2008.
76. Allan K, Devereux G. Diet and asthma: nutrition implications from prevention to treatment. *J Am Diet Assoc* ;111(2):258–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21272700>
77. Gao J, Gao X, Li W, Zhu Y, Thompson PJ. Observational studies on the effect of dietary antioxidants on asthma: a meta-analysis. *Respirology* ;13(4):528–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18410255>
78. Arora, P, Ansari SH, Nazish I. Study of antiobesity effects of ethanolic and water extracts grapes seeds. *J Complement Integr med.* 2011; 8(1).
79. Nazish I, Arora, P, Ansari SH, Ahmad A. Antiobesity activity of *Zingiber officinale*. *Pharmacog. J.* 2016, 8(5).
80. Arora, P, Ansari SH, Nazmi AK, Anjum V, Ahmad S. Investigation of antisthmatic potential of dried fruits of *Vitis vinifera* L. in animal model of bronchial asthma. *Allergy asthma Clin. Immunol.* 2016; 12(1); 42.
81. Abdelqader A, Qarallah B, Al-Ramamneh D, Daş G. Anthelmintic effects of citrus peels ethanolic extracts against *Ascaridia galli*. *Vet Parasitol*;188(1–2):78–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22463876/>
82. Gharagozloo M, Ghaderi A. Immunomodulatory effect of concentrated lime juice extract on activated human mononuclear cells. *J Ethnopharmacol* 77(1):85–90. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874101002690>
83. Tundis R, Loizzo MR, Bonesi M, Menichini F, Mastellone V, Colica C, et al. Comparative study on the antioxidant capacity and cholinesterase inhibitory activity of *Citrus aurantifolia* Swingle, *C. aurantium* L., and *C. bergamia* Risso and Poit. peel essential oils. *J Food Sci*;77(1):H40–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2011.02511.x>
84. Chaiyana W, Okonogi S. Inhibition of cholinesterase by essential oil from food plant. *Phytomedicine*;19(8–9):836–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0944711312000943>
85. Salawu AA, Osinubi AAA, Dosumu OO,

Kusemiju TO, Noronha CC, Okanlawon AO. Effect of the juice of lime (*Citrus aurantifolia*) on estrous cycle and ovulation of Sprague-Dawley rats. *Endocr. Pract*;16(4):561–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20150029/>

86. Souza A, Lamidi M, Ibrahim B, Samseny RRRRA, BoukM, Mounanga ou, et al. Antihypertensive effect of an aqueous extract of citrus aurantifolia (*Rutaceae*) (*Christm.*) Swingle, on the arterial blood pressure of mammal. 2011;

87. Akhtar SS. Evaluation of Cardiovascular Effects of *Citrus Aurantifolia* (Linn.) Fruit. undefined. 2013;

Artigo de Revisão

TERAPIA COMBINADA PARA TRATAMENTO DAS ESTRIAS PÓS PUEPÉRIO: BENEFÍCIOS DA RADIOFREQUÊNCIA, VACUOTERAPIA E FATORES DE CRESCIMENTO

Autores: Esthefani Santos Silva¹, Flavia Rodrigues Gonçalves Penha¹, Itajaci Carvalho da Silva Paranhos¹, Maysa Heiko Fukamachi Bernardes¹, Suzane Siqueira de Figueiredo¹, Leticia Almeida², Luciana de Almeida Ferreira^{3,1}

¹Acadêmica do Curso Superior de Tecnologia de Estética e Cosmética da UNIGRANRIO.

²Professora e Orientadora do Curso Superior de Tecnologia de Estética e Cosmética da UNIGRANRIO.

³Professora Especialista e Co-Orientadora do Curso Superior de Tecnologia de Estética e Cosmética UNIGRANRIO.

Informações do artigo

Palavras Chave:
Gravidez,
Radiofrequência,
Vacuoterapia, Fatores de
Crescimento.

Resumo

A pele é considerada o maior órgão do corpo em área de superfície e peso. Possui funções, como por exemplo, revestimento e proteção, podendo ser fina, espessa, lisa e áspera. Constitui-se por duas camadas distintas de tecidos: a epiderme, mais superficial, e a derme, mais profunda. Um dos problemas relacionados à pele são as estrias, que consistem em atrofia ocasionadas pelo rompimento das fibras elásticas e colágenas. A pele está associada a estética como um todo, tendo relação com a beleza e bem-estar, quando afetada, pode ocasionar baixa autoestima e problemas de ordem psicológica. A busca por tratamentos estéticos que atuem nas estrias de forma a melhorar o seu aspecto é o principal motivo dessa pesquisa. Pode-se observar, por exemplo, que basicamente a radiofrequência ou vácuo, quando utilizados com o objetivo de gerar um processo inflamatório controlado, estimulam a produção de colágeno e elastina e que os fatores de crescimento ajudam no processo de cicatrização e renovação celular. Esta pesquisa tem como objetivo apontar o caso das estrias desenvolvidas pela gravidez e o seu tratamento estético por meio dos recursos eletroterápicos e princípio ativo citados acima, ela se desenvolveu por meio de revisão de literatura integrativa, onde foram selecionadas obras publicadas entre o período de 2010 - 2020, que possibilitaram uma abordagem qualitativa e científica quanto a temática de referência.

^Autor Correspondente:

Luciana de Almeida Ferreira - e-mail: luciana.ferreira@unigranrio.edu.br - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1925-4628>
- Endereço: Rua Dr. Barros Junior, 1911 bl. 01 Ap. 311- Jardim Esplanada - Nova Iguaçu- cep: 26015-081/ Rio de Janeiro

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.102> - Artigo recebido em: 29 de junho de 2020 ; aceito em 09 de julho de 2020 ; publicado em 23 de julho de 2020 no Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.2, julho 2020. Online, ISSN: 2595-0584 – www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.

Introdução

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano e possui inúmeras funções como: a preservação homeostática, a síntese da vitamina D, a proteção do corpo e o auxílio no equilíbrio do organismo, além disso, também possui função sensitiva na proteção contra agentes externos, onde ocorre a captação e eliminação de várias substâncias químicas e tóxicas, e a absorção de radiações ultravioletas (Da Costa, 2016, p. 8, 10).

Um dos problemas relacionados à pele são as estrias, que são afecções que aparecem por meio de lesões púrpuras e que progridem em anomalias embranquecidas e atróficas. Nesse contexto ocorrem, por exemplo, alterações de colágeno, no enchimento do espaço entre as células e as fibras do conjuntivo e fibroblastos (Dolovitsch; Walter; Coelho, 2016, p. 2), ou seja, “por haver perda na capacidade de síntese dos fibroblastos e, comparado à pele sem lesão, há alteração no tecido conjuntivo, diminuição do colágeno, da elastina e das fibras de fibrilinas”. (Reis, 2016, p. 10). Esse acontecimento é muito comum durante o período de gravidez.

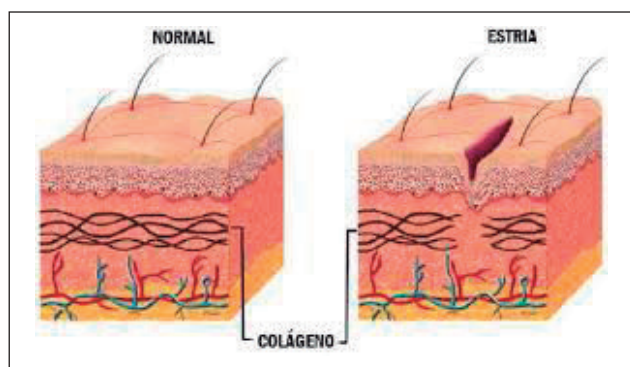


Fig. 1. Figura explicativa diferenciando uma pele normal de uma estria e suas alterações do colágeno (ALVES, 2015).

As estrias não estão relacionadas apenas à gravidez, e que também é comum em homens, e quanto a idade, poderá aparecer em qualquer faixa etária. Já as partes afetadas do corpo, “o surgimento é mais importante no abdome, mas podem também ocorrer estrias nas mamas, axilas, glúteos, área inguinal interna e coxas”. (Addor, 2010, p. 254).

Destaca-se ainda que, no caso da gravidez, as estrias poderão ser mais severas conforme o número maior de gestações, uma vez que as distensões são

novamente desenvolvidas na mesma região, isso envolve portanto, um novo estiramento do tecido e o aumento do peso que, aliás, é próprio da gravidez (De Souza; De Paula; Sobrinho, 2016, p. 42).

Embora a estria não seja uma patologia, seu surgimento poderá gerar resultados desagradáveis, assim como “acarretar problemas emocionais e, tendo-se em vista que saúde se descreve por bem-estar físico e psicológico, as estrias passam a ter grande importância social e clínica”. (Santos; Coelho, 2017, p. 1).

A radiofrequência possui uma corrente de alta frequência que produz calor por conversão, alcançando de maneira profunda as camadas da pele, possibilitando uma melhor oxigenação, nutrição e dilatação dos vasos sanguíneos (Moreira; Giusti, 2013, p. 23).

De acordo com Guirro e Guirro 2004, o vácuo promove uma sucção na pele através da pressão negativa, fazendo com que o sangue seja encaminhado com mais intensidade para a superfície, acarretando um aumento da circulação.

Os Fatores de crescimento (do inglês *growth factor*) formam um conjunto de substâncias, a maioria de natureza proteica, que juntamente com hormônios, citocinas e neurotransmissores desempenham importante papel na comunicação intra e intercelular. A função principal dos fatores de crescimento é o controle externo do ciclo celular, mediante abandono da quiescência celular (Rother, 1989)

Segundo Salven 2000, a função dos fatores de crescimento não se limita à estimulação da proliferação celular mediante a regulação de seu ciclo iniciando a mitose, mas é também crucial na manutenção da sobrevivência, na estimulação da migração e na diferenciação celular, bem como na apoptose. Eles promovem a diferenciação e a maturação das células, dependendo do tipo de fator de crescimento envolvido, bem como de seu local de ação. As proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), por exemplo, estimulam a diferenciação óssea, enquanto o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) estimula a diferenciação dos vasos sanguíneos.

Quanto ao tratamento de estrias existem diversas técnicas, dentre elas, a radiofrequência e a vacuoterapia associadas à cosméticos contendo fatores de crescimento, que têm apresentado resultados significativos.

Metodologia

Trata-se de uma revisão narrativa de literatura publicadas no período entre 2010 a 2020 e utilizou-se como base de dados: Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Google Acadêmico, numa busca entre março de 2020 a maio de 2020.

Foi utilizada a estratégia de PICO: População/Paciente (P): mulheres com estrias ocasionadas pela gravidez; Intervenção (I): técnicas no âmbito da estética e cosmética; Comparação (C): não há; Desfecho/Outcome (O): o uso da radiofrequência, fatores de crescimento e vácuo no tratamento de estrias. Considerou-se como pergunta de pesquisa: “O que se pode fazer para tratar estrias ocasionadas pela gravidez?”

Delimitou-se como critério sistemático de inclusão artigos na íntegra, na língua portuguesa, publicados entre 2010 e 2020, no âmbito da estética e cosmética. Os critérios para exclusão utilizados foram: pesquisas que não disponibilizaram o texto na íntegra, sem aderência ao objeto de estudo.

Os descritores selecionados que se encontram disponíveis no Portal dos Descritores da Scientific Electronic Library Online (SciELO) são: gravidez, estrias, radiofrequência, vácuo, fatores de crescimento. Foram combinados da seguinte maneira: estrias AND gravidez and radiofrequência, fatores de crescimento e vácuo and mulheres com estrias ocasionadas pela gravidez.

Discussão

A pele tem o papel importante de manter a homeostasia do organismo e a sensibilidade, agindo na defesa contra agentes externos, evitando a eliminação de líquido e eletrólitos. A pele “pesa cerca de 4kg e tem superfície de cerca de 1.8m² [...] a água constitui cerca de 70% da composição química da pele, distribuindo-se diferentemente pelas diversas camadas”. Lopes (2017, p. 13).

A pele é rica em lipídios, glucídios e sais minerais, possui nervos sensoriais e autonômicos, que mediam as sensações de toque, vibração, pressão, dor e coceira, além de dispor de elementos biomecânicos que lhe permite responder à agressividade sofrida. Costa et al apud Khavkin (2016, p. 18).

Além disso, a pele por ser anisotrópica, possui ação elástica diversa, e por isso se exterioriza de

acordo com o sentido em que a energia é sobreposta. Nesse sentido, é responsável por um grupo variado de atributos, por exemplo, hemorregulação, metabolização, proteção imunológica, fluxo e termorregulação. (Costa et al apud Fontenelle; Azulay, 2016, p. 18).

Sendo assim, a pele possui variações quanto a sua forma, e é constituída em duas camadas: epiderme e derme. A epiderme cumpre o papel de proteger o tecido, ela é mais externa, e é responsável pela renovação das células, divide-se em: córnea, lúcida, granulosa, espinhosa e basal. Já a derme é rica em colágeno, elastina e reticulina, seus vasos sanguíneos e linfáticos são responsáveis pela condução de diversas substâncias que são essenciais ao metabolismo orgânico, e é dividida em papilar e reticular (BRAIT et al, 2018, p. 80).

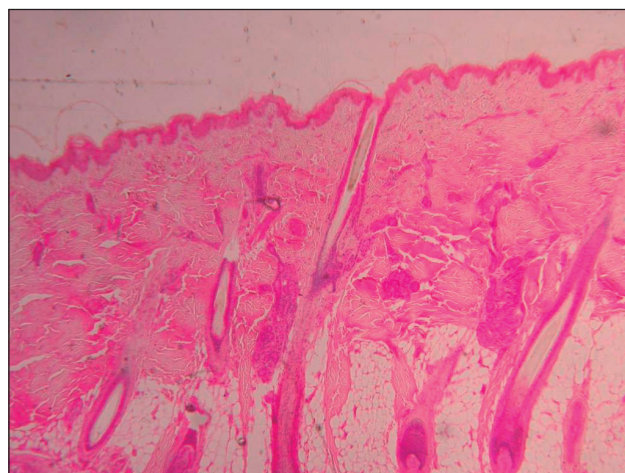


Fig. 2. Camadas: Epiderme, Derme, o folículo piloso em corte longitudinal e um outro folículo em corte oblíquo pegando o bulbo piloso. Fonte: Disponível em: <https://docplayer.com.br/68921181-Sistema-tegumentar-i-pele-fina-material-pele-fina-lamina-1-tecnica-he.html>. Acessado em 10/07/2020.

A derme possui fibras proteicas, terminações nervosas, órgãos sensoriais, glandulares, vasos sanguíneos, e desfruta de uma tela subcutânea ante a pele que é composta por tecido conjuntivo areolar e panículo adiposo, o que concede mobilidade à pele no âmbito subjacente culminando na proteção e isolamento térmico, além de ser responsável por conservar energia do corpo. Ainda quanto à questão celular da derme, os fibroblastos permitem a formação das fibras e da substância amorfa, o que é significativa na firmeza e elasticidade da pele (Idem, 2018, p. 80).

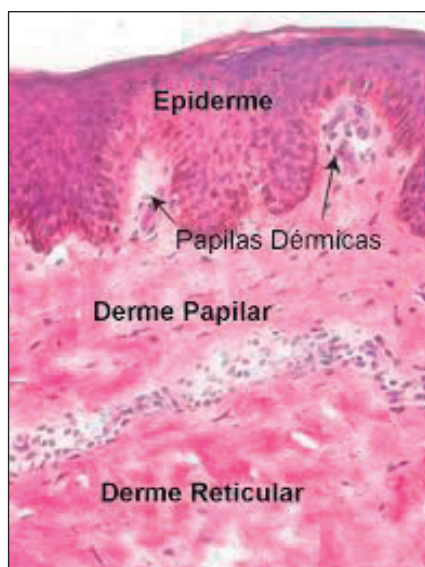


Fig. 3. Corte histológico da pele, onde podem ser observadas as duas camadas da derme com as papilas dérmicas penetrando na epiderme (modificada de Sorrel & Caplan, 2004).

É por meio dos vasos sanguíneos que ocorre a sustentação e a oxigenação das células dérmicas e epidérmicas, e com isso a preservação térmica do corpo. Percebe-se que a elevação de temperatura corporal gera impulsos nervosos, que proporciona o alargamento dos vasos sanguíneos da derme culminando em aumento de circulação no tecido, diante disso, ocorre o acréscimo de irradiação térmica para o centro fazendo com que a temperatura do corpo abaixe. No caso de diminuição de temperatura do corpo, pode-se perceber que o retrair dos vasos sanguíneos acarreta uma menor circulação do sangue na pele, diminuindo, portanto, o calor (Isaac et al 2010, p.127).

Vale ressaltar, que tanto a epiderme como a derme, estão dispostas acima de uma tela subcutânea de adipócitos que são ordenados verticalmente e destinados num plano reto às camadas superficiais por toda região cutânea. No que diz respeito aos lóbulos gordurosos, compreende-se que “são entrelaçados por septos fibrosos orientados perpendicularmente à superfície e ancorados à derme”. (Brait et al apud Cunha; Cunha; Machado, 2018, p. 80).

Fisiopatologia das estrias

A pele está propícia a diversas disfunções e/ou patologias, como é o caso das estrias. Seu surgimento

ocorre por meio da granulação dos mastócitos e estimulação macrófica nas fibras elásticas, culminando no crescimento da elastólise no sítio epitelial. No início do processo, sua aparência é em forma de linha e tortuosa, em tonalidade avermelhada, onde ainda é normal a vascularização do tecido, o que permite um melhor tratamento. Em seguida, as estrias são embranquecidas e mais profundas, tendo aparência de envelhecimento, largas e mais estendidas (Cosme, 2015, p. 3).

Então, logo percebe-se que as estrias avermelhadas desenvolvem elementos “inflamatórios devido ao estiramento intenso das fibras elásticas e do rompimento de capilares sanguíneos, podendo-se observar em alguns casos sinais clínicos alérgicos e prurido intenso”. (Brait et al apud Sabbag; Amaral; Ayala, 2018, p. 81).

Já as estrias nacaradas, desenvolvem-se em consequência da ausência do colágeno e da elastina, que são as fibras responsáveis pela firmeza do tecido, diante disso ocorre a flacidez. Também ocorre “um epitélio pregueado com falhas na secreção sudorípara, sebácea e no crescimento do pelo. Nesse caso as fibras estão em sua maioria rompidas e as lesões podem causar fibrose”. (Brait et al apud Sabbag; Oliveira; Lupi ,2018, p. 81).

As estrias atróficas são cicatrizes em consequência da redução de coloração dos eritrócitos, uma vez que ocorre a diminuição da hemoglobina, culminando na elevação do branqueamento central das hemácias. Isso envolve a desestabilização das fibras elásticas e colágenas, que podem estar bastante danificadas, embora com espaços cutâneos ainda preservados. (Brait et al, 2018, p. 81).

Quanto à sua classificação elas poderão ser: mecânica, endocrinológica e infecciosa. A mecânica é o resultado do estiramento do tecido, que culmina na agressão das fibras elásticas que acabam se desprendendo em partes, como também as colágenas que além de desprenderem se alargam (Pontes, 2013, p. 4). Quanto a sua causa pressupõe-se estar na acumulação de gordura, “um crescimento muito rápido durante a adolescência, uma hipertrofia muscular muito rápida ou uma distensão abdominal considerável, como nos casos de uma gestação”. (Bizarrias; De Souza; Péres, 2017, p. 491).

A endocrinológica relaciona-se com algum tipo de medicamento utilizado no combate de uma doença. Vale ressaltar que estudos apontam que é comum

a presença de hormônio esteroide em estrias, por exemplo, na gravidez e na obesidade, onde ocorre sua ação no fibroblasto. Já a infecciosa está relacionada em consequência de infecções no tecido, onde as fibras elásticas são agredidas (Bizarrias; De Souza; Péres apud Guirro; Guirro, 2017, p. 491).

Estrias em consequência da gravidez

O surgimento de estrias é bastante comum nos três últimos meses de gravidez devido as várias alterações no organismo feminino, essas mudanças, dependendo da gestante, podem variar, sendo também físicas e/ou emocionais e “interferem no sistema imunológico, hormonal e vascular que deixam as mulheres mais propensas a alterações cutâneas”. (Franzen; Foppa; Zancanaro, 2016, p. 403).

Durante o período de gravidez a mulher está sujeita a diversas alterações no organismo, onde é comum que anomalias hormonais, no sistema imunológico e vascular ocorram, resultando em diversos problemas na pele.

No período de gestação, entende-se que ocorre um complexo processo através da “combinação de estiramento mecânico da pele, fatores genéticos, alterações endócrinas e eventualmente a secreção do hormônio relaxina durante a gravidez, isolados ou associados”. (De Souza; De Paula; Sobrinho apud Chang *et al* , 2016, p. 42).

De Souza; De Paula; Sobrinho apud Addor, 2016, p. 43, entende que o processo da formação da estria esteja:

“Relacionado a ruptura de fibras colágenas e elásticas do tecido conjuntivo da derme, devido a distensão da pele. Estruturas da matriz extracelular da derme, tais como as fibras elásticas, colágenas e fibronectina, que promovem a distensão da pele se rompem causando o aparecimento de estrias, podendo comprometer as propriedades biomecânicas da pele, como a firmeza e elasticidade”.

No período de gravidez, pressupõe-se que as alterações do corpo sejam naturais para efeito da evolução gestacional; com isso, o estiramento do tecido diante do desenvolvimento do feto e o aumento de peso da gestante, acabam criando um cenário propício para o surgimento de estrias.

Aponta-se que as estrias em gestantes são mais comuns no abdome, quadris, glúteos e mama, e em consequência do aumento do peso nos braços, e axilas,

e por serem lesões principalmente visíveis acabam gerando aflições no âmbito estético (De Souza; De Paula; Sobrinho apud Sato, 2016, p. 45).

Portanto, entende-se que as estrias em algumas mulheres, na gestação ou após, poderá interferir de maneira significativa em sua qualidade de vida, ocasionando baixa autoestima e outros problemas de ordem psicológica (Reis, 2016, p. 10).

Terapia combinada para tratamento das estrias

Existem algumas técnicas de tratamentos para estrias, mas que além de serem desafiadoras exigem da paciente compromisso e perseverança. Tem-se observado que os resultados positivos nos tratamentos de estrias em seu início são mais eficientes que em estrias mais avançadas. Esses tratamentos buscam, principalmente, a eliminação do tecido fibroso, trocando-o por novas células, e assim, reconstituindo sua elasticidade e aspecto (Dolovitsch; Walter; Coelho, 2016, p. 2).

Dentre as técnicas de tratamentos estão a radiofrequência, o vácuo e os fatores de crescimento, obtendo-se resultados significativos nos tratamentos de estrias, mas que devem ser observadas suas restrições em caso de gravidez.

Radiofrequência

A radiofrequência é considerada um método que oferece bons resultados, pois otimiza o colágeno e a elastina, uma vez que são essas as fibras que se rompem dando início a estria.

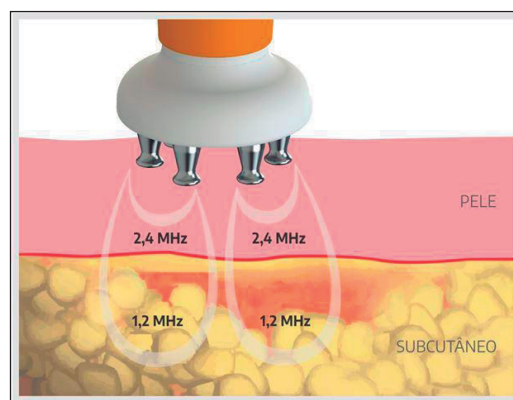


Fig. 4. Fonte: Disponível em: <<<https://consulin.com.br/site/dicas/radiofrequencia-profundidade/>>>. Acesso em: 28 de Mai de 2020. Radiofrequência e sua profundidade.

A radiofrequência possui uma corrente de alta frequência que produz calor por conversão, alcançando de maneira profunda as camadas da pele, possibilitando uma melhor oxigenação, nutrição e dilatação dos vasos sanguíneos (Moreira; Giusti, 2013, p. 23).

Sua ação por meio de energia eletromagnética, não é invasiva, além de ser considerada segura, quando aplicada dentro dos parâmetros corretos, e apresenta resultados satisfatórios no tratamento de estrias, podendo ser utilizada em qualquer tipo de pele. Sua aplicação através da elevação de temperatura do tecido, desencadeia de forma continuada inúmeros efeitos fisiológicos, dentre eles: o aquecimento do tecido, o estímulo da vasodilatação e a reconstrução do colágeno (Hansen et al apud Borelli, 2016, p. 132).

Segundo De Souza; De Paula; Sobrinho apud Crocco; Mantovani; Volpine (2016, p. 48) apontam que:

“Essa tecnologia produz calor pela rotação de dipolos que sua aplicação proporciona que pode chegar a 65°C na derme. Esse aumento de temperatura estimula a neocolagênese, provocando a reorganização do colágeno. No tratamento de estrias, essa técnica pode ser utilizada em associação com o laser de 585 nm (Pulsed dye laser- PDL) demonstrando alta eficácia”.

Estudos tem comprovado que a radiofrequência além de eficiente, possui uma margem de segurança significativa, e que sua contração exercida sobre o colágeno e estimulação dos fibroblastos por meio de ondas curtas auxiliam na recuperação da firmeza e da elasticidade do tecido, melhorando sua aparência (Gadelha, 2018, p. 8).

Diante disso, o tratamento por radiofrequência não tem apresentado efeitos colaterais, além de obter boas avaliações quanto o seu tratamento contra as estrias (Rezende; Pinheiro; Mendonça, 2016, p. 62). Aliás, após o período de regeneração tecidual, lhe tem sido associado outras técnicas, como o caso do vácuo, que possibilita um resultado semelhante.

Vacuoterapia

Na atualidade o vácuo tem sido utilizado em diversos tratamentos de pele, inclusive, em casos de estrias, seu uso concomitante por meio de uma pressão negativa desenvolve uma aspiração não invasiva no tecido. Sua pressão deverá causar uma sangria “ser

contínua ou pulsada [...] isso provoca uma depressão no local, formando uma prega cutânea e o rolamento das estruturas envolvidas”. (Oliveira apud Silva 2016, p. 20).

Quanto ao vácuo é considerada uma técnica antiga, Oliveira apud Silva (2016, p. 20), aponta que:

“Os antigos egípcios foram os pioneiros a utilizar as ventosas e ao longo dos anos foi sendo aperfeiçoada por vários médicos da medicina chinesa. O aparelho gera uma pressão negativa provocando uma sucção não invasiva da pele, podendo ser contínua ou pulsada isso provoca uma depressão no local, formando uma prega cutânea e o rolamento das estruturas envolvidas”.

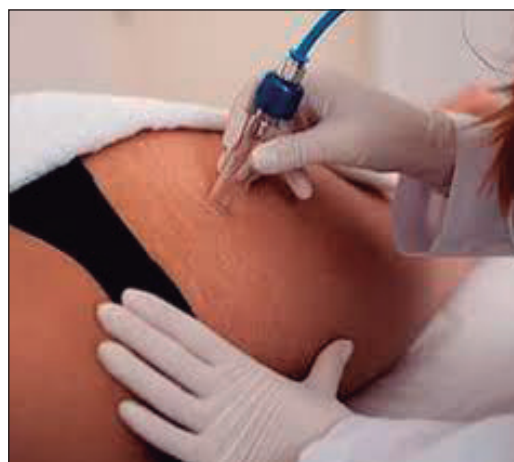


Fig. 5. Fonte: Disponível em: <<<https://www.google.com/search?q=vacuoterapia>>>. Acesso em 28 de Mai de 2020. . Vacuoterapia em estrias

Segundo Guirro; Guirro (2004):

“O vácuo promove uma sucção na pele, fazendo com que o sangue seja encaminhado com mais intensidade para aquela área, acarretando um aumento da circulação onde irá ativar a troca gasosa entre os tecidos e os capilares. Aumentando a pressão osmótica do tecido intersticial, conseqüentemente melhorando a permeabilidade dos capilares provocando um edema local”.

A vacuoterapia ocorre através do desfibrosamento gradativo cutâneo em que o tônus da epiderme recebe estímulos culminando em sua reformulação. O vácuo paralelamente à compressão contrária, faz que as células de etimologia mesenquimática, que são responsáveis pelo colágeno e elastina, como também, as glicoproteínas e proteoglicanas do tecido conjuntivo, recuperem a tonicidade e elasticidade da pele. (Oliveira 2016, p. 21), ou seja, se deve a submissão

da força de deslocamento do fibroblasto, elevando, portanto, a produção de colágeno e da elastina “comparados a um fibroblasto em repouso, sendo este um aspecto fundamental para uma melhora da elasticidade, tonicidade e mobilidade do tecido”.

A vacuoterapia embora possibilite resultados significativos na restauração da elasticidade da pele, regeneração do tecido, cicatrizes atróficas e fibróticas, e seja mais propriamente aplicada em casos de estrias, celulites, rugas e flacidez, possui algumas contra indicações no caso de afecções (Oliveira, 2016, p. 22). Por exemplo, em tratamento de estrias a pressão negativa em detrimento da sangria deve ser considerada pelo profissional, não sendo indicado o seu uso em casos de diabéticas, uma vez que poderá ter consequências no processo de cicatrização do tecido. Outra situação está em pessoas com câncer, uma vez que poderá haver estimulação do sistema linfático, podendo se desenvolver um espalhamento de células contaminadas (Oliveira apud SILVA, p. 20).

Fatores de crescimento

Segundo Rother 1989, os fatores de crescimento vêm do inglês *growth factor*, formando um conjunto de substâncias, a maioria de natureza proteica, que juntamente com hormônios, citocinas e neurotransmissores desempenham importante papel na comunicação intercelular. Sua função principal é o controle externo do ciclo celular, mediante abandono do repouso na célula.

No entanto, a função dos fatores de crescimento não se limita à estimulação da proliferação celular mediante a regulação de seu ciclo iniciando a mitose, mas é também crucial na manutenção da sobrevivência, na estimulação da migração e na diferenciação celular, bem como na apoptose. (Mansbridge 1999).

Eles promovem a diferenciação e a maturação das células, dependendo do tipo de fator de crescimento envolvido, bem como de seu local de ação. As proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), por exemplo, estimulam a diferenciação óssea, enquanto o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) estimula a diferenciação dos vasos sanguíneos (Salven, 2000).

De acordo com Salven, 2000 os fatores de crescimento agem como sinalizadores entre as células, unindo-se a receptores celulares específicos situados na membrana celular que transmitem o

sinal do exterior para o interior da célula, mediante o acoplamento de diferentes proteoquinases que se fosforilam e ativam uma cascata de sinais que acaba com a ativação de um ou vários genes .

As pesquisas apontam alguns fatores de crescimento, dentre eles: o Transformador Beta, o Fibroblástico e o Insulínico, junto aos recursos eletroterápicos podem ser usados no tratamento das estrias. Esses fatores não possuem, por exemplo, importância diante das agressividades das estrias no tecido. Eles são agentes que promovem o colágeno, a elastina, além de atuarem diretamente no processo químico das células (Costa et al, 2020, p. 48).

O fator de crescimento Beta tem, dentre vários aspectos, a função de otimizar a síntese do colágeno, além do equilíbrio do crescimento, “controle, diferenciação, proliferação celular, desenvolvimento e reparo tecidual, além de inibir a apoptose celular”. (Brait *et al*, 2018, p. 81).

Sua ação no processo de surgimento de novos vasos sanguíneos por meio dos existentes, permite que estimule os fibroblastos na produção de colágeno, além de atuar na multiplicação celular, culminando na cicatrização do tecido afetado pelas estrias (Brait *et al*, 2018, p. 82).

O fator de crescimento Insulínico ajuda a eliminar e prevenir as estrias, pois estimula a construção de células dos tecidos, além de elevar as taxas de colágeno e elastina. Portanto, é importante na reestruturação do tecido agredido pelas estrias, além auxiliar na construção da matriz extracelular refazendo as fibras e ocasionando preenchimento cutâneo e diminuído a extensão estriada. Quanto aos resultados, embora significantes, tem-se percebido ser bem variado, dependendo da reação do organismo de cada paciente (Cosme; Piatti; Caramori, 2015).

Já o fator de crescimento Fibroblástico, atua basicamente na estabilização da angiogênese e divisão das células eucarióticas que têm seus cromossomos partidos em células menores do organismo, além de estimular a multiplicação dos fibroblastos. Por fim, o fator Fibroblástico atua na sistematização das células responsáveis pelo sistema imunológico do organismo, nas células T/ neutrófilos que são responsáveis pelo processo imunitário e o controle infeccioso. (Brait et al, 2018, p. 82).

Conclusão

As novas tecnologias e a busca por tratamentos mais eficazes na área da estética estão amplamente impulsionadas pela busca constante por um corpo perfeito ou a melhoria de alguma disfunção estética incômoda, sendo assim a preocupação de fazer um estudo para melhorar o aspecto das estrias.

Conclui-se que a terapia combinada com radiofrequência e vacuoterapia, podem ser de grande importância no tratamento das estrias pós gestação, visto que seus mecanismos de ação agem removendo células mortas, aumento da circulação sanguínea, trazendo aporte nutricional, oxigenação e com isso aumentando a produção de colágeno e elastina.

Alguns autores relatam que produtos cosmeceúticos contendo fatores de crescimento como ativos principais, podem ser considerados seguros e eficazes para aplicação tópica, uma vez que não promoveram a proliferação de células anômalas, bem como, em alguns casos, estimularam a proliferação de fibroblastos normais, células cruciais no processo de reparação tecidual e associado aos recursos eletroterápicos podem ser de grande ajuda no tratamento das estrias pós puerpério.

Espera-se que com essa revisão possam servir para novas pesquisas. A sugestão é que seja realizado um estudo de caso prático onde possa comprovar a eficácia ou não da terapia combinada sugerida nesse estudo.

Referências

Addor; Sérgio; Vanessa; Jayme. **Gestação e predisposição ao aparecimento de estrias: correlação com as propriedades biomecânicas da pele.** Surgical & Cosmetic Dermatology 2010 Fev; 2 (4): 253-256.

Bizarrias; Raposo; Pérez. **Eficácia da eletrogalvanopuntura comparado à acupuntura na técnica de pica-pau (sangria) no tratamento de estrias nacaradas em mulheres pós-gravidez.** Revista Fisioterapia Brasil 2017 Mai; 18 (4): 489-496.

Brait; Tessesine; Rocha; Dantas. **Microagulhamento associado a fatores de crescimento e vitamina C no tratamento de estrias, fibro edema gelóide e flacidez tissular na região glútea.** Revista Fisioterapia Brasil 2018 Jan; 19 (1): 80-88.

Cosme LV. **Micropuntura com fatores de**

crescimento no tratamento de estrias abdominais: Um estudo experimental acerca da biomedicina estética. Faculdade de Ciências de Educação e Saúde. Brasília, 2015.

Costa FCS. **Utilização de corrente microgalvânica para o desenvolvimento de dois protocolos para tratamento de estrias albas.** [dissertação]. Universidade Tecnológica Federal do Paraná; 2016.

Costa; Sousa; Magalhães; Souza; Ferreira; Oliveira. **Microagulhamento no tratamento de estrias associado à cosmetologia.** ReBIS-Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde 2019 Fev; 4 (1); 44-49.

Da Costa RS. **Principais Métodos para Tratamento Estético de Estrias.** Instituto de Ensino Superior e Pesquisa. Recife, 2016.

De Souza; Rocha; De Paula; Sobrinho. **Gestação e predisposição ao aparecimento de estrias cutâneas.** Universitas: Ciências da Saúde 2016 Abr.; 14 (1); 41-52.

Dolovitsch; Walter; Coelho. **Revisão bibliográfica de alterações estéticas corporais: Estrias.** Salão Do Conhecimento, 2016.

Franzen; Foppa; Zancanaro. **O papel do farmacêutico magistral na prevenção de estrias gravídicas.** Revista da Universidade Vale do Rio Verde 2016 Jan; 14 (1); 403-410.

Gadelha RSP. **Tratamento da flacidez abdominal pós-parto utilizando as técnicas de radiofrequência e corrente russa.** Faculdade de Ciências da Educação e Saúde. Brasília, 2018.

Guirro, Elaine Caldeira de Oliveira ; Guirro, Rinaldo Roberto de J. **Fisioterapia dermatofuncional: fundamentos-recursos-patologias .** 3 ed., rev. e ampl. Barueri: Editora Manole Ltda, 2004.

Hansen; Giacomolli; Reis; Deuschle. **Qualificação Profissional das Acadêmicas do Curso de Estética e Cosmética Através de Ações Voltadas à Comunidade.** Cata-ventos-Revista de Extensão da Universidade de Cruz Alta 2016 Jan; 7 (1); 123-136.

Isaac; Ladeira; Aldunate; Ferreira. **Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica.** Revista de Medicina 2010 Dez; 89 (4); 125-131.

Lopes IF. **Estrias cutâneas: processo e estratégias para prevenir e retardar o aparecimento.** [dissertação] Instituto Superior de Ciências Egaz Moniz, 2017.

Mansbridge, JN, Liu, K, Pinney, RE, Patch, R, Ratcliffe, A, Naughton, GK. **Growth factors secreted by fibroblasts: role in healing diabetic foot ulcers.**

Diabetes, Obesity Metab. 1999, 1(5):265–79.

Moreira; Giusti. **A fisioterapia dermatofuncional no tratamento de estrias:** Revisão de literatura. Revista Científica da Uniararas 2013 Fev; 1 (2); 22-32.

Oliveira IC. **Análise dos efeitos provocados pela utilização da vacuoterapia associada à aplicação da vitamina”** nas estrias brancas: um relato de caso. Minas Gerais, 2016.

Pontes, A. **Recursos fisioterapêuticos utilizados no tratamento das estrias: uma revisão de literatura.** Caderno de ciências biológicas e da saúde 2013 Jan; 2 (1); 1-12).

Reis EES. **Prevalência e fatores de risco para o surgimento de estrias de distensão relacionadas ao período gestacional: um estudo piloto.** Universidade do Rio Grande do Sul, 2016.

Rezende; Pinheiro; Mendonça. **Recursos terapêuticos utilizados no tratamento de estrias de distensão: uma revisão sistemática.** Jornal de ciências biomédicas e saúde 2016 Fev; 1 (3); 59-67.

Rothe M, Falanga V. Growth factors. **Their biology and promise in dermatologic diseases and tissue repair.** Arch Dermatol. 1989; 125(10): 1390–8.

Salven P, Orpana A, Teerenhovi L, Joensuu H. **Simultaneous elevation in the serum concentrations of the angiogenic growth factors VEGF and bFGF is an independent predictor of poor prognosis in non-Hodgkin lymphoma: a single-institution study of 200 patients.** Blood. 2000; 96(12):3712-8.

Santos; Coelho. **Estudo do Tratamento de Estrias com Microcorrente Galvânica e Vacuoterapia.** Universidade Anhanguera-Uniderp, 2017.