



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102020022050-0 A2



(22) Data do Depósito: 28/10/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 10/05/2022

(54) **Título:** MÉTODO DE OBTENÇÃO DE SHAMPOO CONTENDO TENSOATIVO NATURAL, ISENTO DE SULFATO E COMPOSIÇÃO DE SHAMPOO RESULTANTE

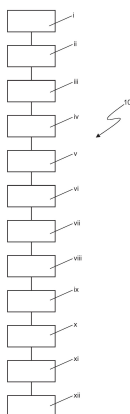
(51) **Int. Cl.:** A61K 8/9794; A61Q 5/00.

(52) **CPC:** A61K 8/9794; A61Q 5/00.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO.

(72) **Inventor(es):** LUCINÉIA DOS SANTOS; FELIPE CALIANI MATHIAS NETTO.

(57) **Resumo:** MÉTODO DE OBTENÇÃO DE SHAMPOO CONTENDO TENSOATIVO NATURAL, ISENTO DE SULFATO E COMPOSIÇÃO DE SHAMPOO RESULTANTE. Trata-se de método de obtenção de shampoo (10) e composição de shampoo resultante do tipo utilizado nas indústrias farmacêutica e cosmética; dito método de obtenção de shampoo (10) aproveita o descarte em forma de mucilagem - resíduos sólidos e líquidos - da folha do sisal após a retirada das fibras onde são adicionados tensoativos secundários constituindo uma solução tensoativa natural do sisal para a obtenção da composição de shampoo isento de Lauril Éter Sulfato de Sódio.



“MÉTODO DE OBTENÇÃO DE SHAMPOO CONTENDO TENSOATIVO NATURAL, ISENTO DE SULFATO E COMPOSIÇÃO DE SHAMPOO RESULTANTE”.

CAMPO TÉCNICO DA INVENÇÃO

[001] A presente patente de invenção trata de método de obtenção de shampoo contendo tensoativo natural, isento de sulfato e composição de shampoo resultante onde, notadamente, dito método de obtenção compreende as etapas de: i) obtenção das saponinas a partir da mucilagem do sisal; ii) dissolução das saponinas do sisal para a obtenção de uma solução tensoativa natural; iii) quantificação das saponinas; iv) determinação da citotoxicidade das saponinas; v) obtenção do shampoo contendo solução tensoativa natural do sisal e isento de sulfato. A composição obtida de shampoo livre de sulfato e contendo a solução tensoativa natural do sisal apresenta-se extremamente satisfatória, uma vez que, prevê excelente estabilidade, aparência e viscosidade. Assim, a solução tensoativa natural do sisal pode ser utilizada em formulações farmacêuticas e cosmética em substituição aos tensoativos sintéticos sulfatados, que agredem a pele e couro cabeludo, em especial o Lauril Éter Sulfato de Sódio.

HISTÓRICO DA INVENÇÃO

[002] A recente tendência do mercado de tensoativos por produtos livres de sulfato vem crescendo cada vez mais. Substituir o principal tensoativo usado no mercado, o laurel éter sulfato de sódio, tem sido um desafio para a indústria nos últimos anos. Vários pesquisadores do mundo inteiro buscam uma solução com custo viável para a substituição deste tensoativo, de forma a criar produtos farmacêuticos e cosméticos que danifiquem menos a pele e o couro cabeludo.

[003] Desta forma, as inovações na área de produtos naturais são importantes. Estudos recentes realizados pela agência de proteção ambiental - EPA - dos Estados Unidos revelou que o sangue humano e os tecidos lipídicos contêm até 400 substâncias químicas perigosas originárias de medicamentos, cosméticos e produtos alimentícios. Sendo que esses produtos químicos podem causar vários tipos de câncer e vários distúrbios crônicos. Tais estudos incentivaram o desenvolvimento de composições cosméticas e farmacêuticas mais naturais; no entanto, até o momento, nenhuma das

composições disponíveis, particularmente aquelas consideradas essenciais, como sabonetes/shampoos para o corpo, apresenta tensoativo 100% natural.

[004] Os shampoos e sabonetes líquidos contém como agentes de limpeza tensoativos de caráter aniônico, anfotérico e/ou não-iônico. O tensoativo aniônico é o agente de limpeza principal que quando ionizado fica carregado negativamente. O tensoativo aniônico mundialmente e amplamente utilizado é o Lauril Sulfato de Sódio e o Lauril Éter Sulfato de Sódio que apresenta alto poder de espumação sendo formação de espuma rápida e volumosa, alto poder de detergência limpeza do sebo, sujidades e partículas, facilidade de espessamento e baixíssimo custo.

[005] Entretanto, devido seu alto poder de detergência, tensoativos sulfatados acabam retirando em excesso lipídeos, tanto da pele do corpo quanto do couro cabeludo, além da gordura da própria haste capilar, se mostrando como um importante irritante cutâneo. Também, shampoos sulfatados podem ocasionar maior desbotamento da coloração de cabelos tingidos e maior ressecamento em fios naturalmente ressecados como cabelos cacheados ou crespos.

[006] Considerando que o tensoativo mais utilizado em formulações cosméticas trata-se do Lauril éter Sulfato de Sódio, um produto altamente irritante, inúmeras são as pesquisas que buscam a sua substituição por tensoativos naturais, bem como, a redução de tensoativos sintéticos nas formulações.

PESQUISA

[007] O Brasil é o maior produtor e exportador mundial do sisal, *Agave sisalana*, cujo estado com maior produção de sisal é a Bahia, que concentra 95,2% da produção nacional. Embora o sisal represente uma das poucas opções econômicas viáveis no clima semiárido do nordeste brasileiro, com a introdução no mercado da fibra sintética, sua cultura tem sofrido grandes perdas de mercado nos últimos anos por possuir baixo aproveitamento e, conseqüentemente, elevado custo. Após o desfibramento das folhas do sisal, apenas 5% de seu peso converte-se em produto rentável, ou seja, a fibra dura, usada na indústria automobilística, na produção de cordas, artesanato, entre outros produtos. O restante é descartado em forma de mucilagem – resíduos sólidos e líquidos.

[008] Diante de situações como essa, existe uma preocupação mundial quanto à busca de estratégias inovadoras para o reaproveitamento de grande perda de resíduos agrícolas. Entende-se a necessidade de reaproveitar esses resíduos para promover a sustentabilidade ambiental e o incremento social e econômico de famílias de baixa renda.

[009] De acordo com a pesquisa denominada como 'Avaliação físico-química e tecnológica da fração saponosídica dos frutos de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil.: potencialidade como adjuvante espumógeno' publicada no <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/10882> as saponinas são tensoativos naturais, caracterizadas principalmente por sua atividade espumógena. *Ilex paraguariensis* A. St. Hil, conhecida como "erva-mate", é uma espécie vegetal rica em saponinas e de importância econômica e cultural para este Estado. Estudos anteriores demonstraram que os frutos imaturos de *I. paraguariensis*, uma parte do vegetal sem valor comercial, apresenta teores mais elevados de saponinas que as folhas da erva-mate. O objetivo deste trabalho foi avaliar a potencialidade das saponinas dos frutos imaturos de *I. paraguariensis* como adjuvante espumógeno, sob o ponto de vista físico-químico e tecnológico, bem como a avaliação do potencial de irritação dérmica. Para isso, foram empregados um extrato bruto liofilizado (EXL) obtido por turbólise na proporção de 1:10 droga-solvente em etanol:água (40:60 v/v) como líquido extrator e dois produtos purificados ricos em saponinas, denominados Fr.7090 e P6, obtidos por um processo de fracionamento em fase sólida e eluição com metanol-água (método I) e por um processo de complexação com polímero polivinílico por contato direto (método II), respectivamente. Para a caracterização do perfil das saponinas e monitoramento de processos, foi desenvolvida uma metodologia analítica por CLAE em fase reversa C18, em sistema gradiente acetonitrila: ácido fosfórico 0,5 % com detecção em 205 nm. A atividade de superfície das saponinas foi avaliada através do abaixamento da tensão superficial, CMC, excesso de superfície e área superficial. Os perfis de espumabilidade e estabilidade da espuma das saponinas do EXL e da Fr. 7090 foram avaliados através de medidas da espumabilidade, drenagem, tempo de permanência da espuma e resistência. Como tensoativos de comparação foram utilizados o laurilsulfato de sódio

(LSS) e polissorbato 80 (Poli. 80), empregados nas mesmas condições e concentrações que as soluções de saponinas. A influência de eletrólitos sobre os perfis espumógenos foi avaliado utilizando NaCl, KBr, KNO₃, MgCl₂ e Na₂HPO₄, mantendo a força iônica constante em 0,024 M. Para a análise das propriedades espumógenas das saponinas, a espuma foi gerada em coluna de vidro por insuflação de ar durante 20 segundos, mantendo um fluxo de 2 L min⁻¹. O perfil de drenagem das espumas das saponinas na concentração de 10 CMC foi avaliado e expresso como percentual de volume de líquido retido na espuma (VLE %), no tempo zero e ao longo de 60 minutos. A estabilidade da espuma das saponinas de Fr.7090 e P6 foi avaliada considerando a altura da coluna de espuma em função do tempo e pelo registro e análise fotográficos da espuma até 480 minutos. Para avaliar a influência do tamanho micelar sobre as propriedades espumógenas dos tensoativos, o diâmetro efetivo das micelas foi determinado por medidas de espalhamento de luz dinâmica. Dados adicionais sobre a sua estabilidade foram obtidos mediante a análise fotográfica bidimensional, em câmara geradora de espuma projetada para esta finalidade. A resistência da espuma foi caracterizada mediante a velocidade de queda de uma esfera através da coluna de espuma, sob condições experimentais padronizadas. A Fr. 7090 apresentou um elevado grau de espumabilidade semelhante ao LSS e superior ao Poli. 80. Quanto ao perfil de drenagem, as saponinas apresentaram um valor de VLE % em 60 minutos (T1h) de 12,0 % e 15,2 %, para o EXL e Fr. 7090, respectivamente, em relação a 7,15 % para ambos tensoativos sintéticos. As saponinas apresentaram um perfil de estabilidade diferenciado, com maior estabilização estrutural com o tempo. As espumas das saponinas apresentaram uma resistência superior aos tensoativos sintéticos, porém, somente a 25 CMC. A adição de eletrólitos às soluções de saponinas influenciou negativamente os perfis espumógeno e de estabilidade da espuma das saponinas. As análises por espalhamento da luz sugerem micelas de dimensões maiores em relação aos tensoativos não-iônicos ou a possível formação de estruturas supramicelares, mesmo baixas concentrações. Pela análise bidimensional, a espuma do EXL apresentou menor alteração da forma e número das bolhas de ar com o tempo, comparado à espuma de LSS. O potencial de irritação dérmica das saponinas foi avaliado pelo teste de irritação primária dérmica de *Draize in*

vivo, em coelhos machos albinos. A avaliação biológica classificou as saponinas como produtos não-irritantes. Pelos resultados, concluiu-se que as saponinas dos frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* apresentam um potencial emprego tecnológico, tanto pelas suas propriedades espumógenas, como pela ausência de irritação cutânea.

[010] Da mesma forma, a pesquisa denominada como 'Estratégias de Processamento Verde de Saponinas da Biodiversidade Brasileira' e encontrada no endereço eletrônico <http://186.202.79.107/download/processamento-verde-de-saponinas.pdf> revela duas fontes vegetais da agrobiodiversidade brasileira para obtenção de saponinas e explorar vários processos verdes de extração e concentração de saponinas, além de identificar, a partir de suas características, quais aplicações poderiam ser mais apropriadas para as saponinas.

[011] Outra pesquisa denominada como Obtenção de Extratos Contendo Saponinas Obtidas a partir do Resíduo do Sisal (*Agave sisalana*) e Atividade Biológica publicada no endereço eletrônico <http://www2.uefs.br/semic/upload/2011/2011xv-054pat734-140.pdf> revela que com estudos da espécie *Agave sisalana* e considerando os resultados obtidos nota-se que há potencial antifúngico e antioxidante no extrato acetato de etila, e por esse motivo novos ensaios devem ser efetuados visando à melhor exploração desse extrato na busca de uma alternativa promissora para as atividades estudadas a partir desta espécie.

[012] Um documento de nº. US 9.474.283 encontrado em banco de dados especializados revela uma composição que inclui vários extratos naturais para uma variedade de aplicações humanas onde dita composição é compreendida por uma quantidade antibacteriana eficaz de um material de saponina de pelo menos uma planta selecionada a partir do grupo que consiste em *Camellia sinensis*, *Camellia oleifera*, *Saponaria officinalis*, e *Sapindus mukorossi* ou uma mistura dos mesmos, e uma quantidade antibacteriana eficaz de um extrato de planta de pelo menos uma planta selecionada a partir do grupo que consiste em *Lonicera*, *Populus*, e *Wasabia* ou uma mistura dos mesmos, em que a razão em peso entre o material de saponina e o extrato vegetal está entre cerca de 1: 100 e cerca de 100: 1.

ANÁLISE DO ESTADO DA TÉCNICA

[013] Em pesquisa realizada em bancos de dados especializados foram encontrados documentos referentes à método de obtenção de shampoo contendo tensoativo natural, isento de sulfato e composição de shampoo resultante onde os tensoativos naturais mais citados nas pesquisas foram os biossurfactantes, metabólitos de micro-organismos (como bactérias e fungos) e classificados do ponto de vista químico como glicolipídios, lipopeptídeos e lipoproteínas, fosfolipídios e surfactantes poliméricos.

[014] O documento de nº. CN103637963A refere-se a um gel de banho preparado a partir de surfactantes verdes e seguros, ou seja, saponina de chá e alquil glicosídeo, surfactantes seguros e suaves, ou seja, óxido de lauramidopropilamina, sabão de alifato de potássio e goma guar catiônica, assistentes, nomeadamente éster de ácido graxo de sacarose (uma espuma agente estabilizador e espessante) e solução de extração de aloe vera, e outros assistentes seguros, como sal dissódico de ácido etilenodiaminotetracético, um conservante e água desionizada. O objetivo da invenção foi o de desenvolver um gel de banho rico em saponinas, com sensação de sabão. Apresentando abundância de espuma, enxague fácil e também com toque suave. Como as saponinas têm várias ações farmacológicas, promover ação anti-inflamatória e proteção da pele. O gel de banho é composto pela seguinte proporção percentual em peso: Chá de Saponina 25%; alquil poliglicosídicos 20%; Sabão de potássio obtido a partir de ácidos graxos 10%; Éster de ácido graxo 6%; Goma Guar Quaternizada 1%; N-óxido; Dodecanamida, N- [3- (Dimetilamino) propil] – 8%; Água – quantidade suficiente para 100%.

[015] A Tese de Doutorado. UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas Porto Alegre, 2007. Canto, Gizele Scotti do Avaliação físico-química e tecnológica da fração saponosídica dos frutos de *ilex paraguariensis* A. St. Hil.: potencialidade como adjuvante espumógeno revela que as saponinas são tensoativos naturais, caracterizadas principalmente por sua atividade espumógena. *Ilex paraguariensis* A. St. Hil, conhecida como "erva-mate", é uma espécie vegetal rica em saponinas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a potencialidade das saponinas dos frutos imaturos de *I. paraguariensis* como adjuvante espumógeno, sob o ponto de vista físico-químico e tecnológico, bem como a

avaliação do potencial de irritação dérmica. Para isso, foram empregados um extrato bruto liofilizado (EXL) obtido por turbólise e dois produtos purificados ricos em saponinas, denominados Fr.7090 e P6. A Fr. 7090 apresentou um elevado grau de espumabilidade semelhante aos surfactantes sintéticos. As saponinas apresentaram um perfil de estabilidade diferenciado, com maior estabilização estrutural com o tempo. As espumas das saponinas apresentaram uma resistência superior aos tensoativos sintéticos. As análises por espalhamento da luz sugerem micelas de dimensões maiores em relação aos tensoativos sintéticos. Pela análise bidimensional, a espuma do EXL apresentou menor alteração da forma e número das bolhas de ar com o tempo, comparado à espuma do tensoativo sintético. O potencial de irritação dérmica das saponinas foi avaliado, sendo classificado não-irritantes. Pelos resultados, concluiu-se que as saponinas dos frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* apresentam um potencial emprego tecnológico, tanto pelas suas propriedades espumógenas, como pela ausência de irritação cutânea.

[016] A pesquisa acadêmica RIBEIRO, Bernardo Dias. Estratégias de Processamento Verde de Saponinas da Biodiversidade Brasileira. Rio de Janeiro, 2012. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro consiste na busca por matérias-primas vegetais oriundas da biodiversidade brasileira que possuam saponinas com potencial de aproveitamento econômico. Para isso, duas plantas, no máximo, foram selecionadas pela comparação das suas propriedades físico-químicas e antimicrobianas, e estas foram caracterizadas e utilizadas como matéria-prima para o estudo e desenvolvimento de métodos de extração e concentração verdes das saponinas. Posteriormente, foram realizados testes de aplicação das saponinas como ativador e/ou inibidor enzimático para uso em alimentos e/ou cosméticos. Das 38 plantas avaliadas por critérios tais como teor de saponinas e seus respectivos índices de emulsificação, tensão superficial, atividade antimicrobiana, além da sua sustentabilidade, duas foram escolhidas: juá e sisal. Com isso, foi realizada a caracterização destas saponinas, determinando suas concentrações micelares críticas (CMCs), 1,11 e 0,54 g/L, respectivamente. A extração micelar tendo como condições em relação as saponinas de juá: 38,8°C; 1 h; 0,272

(relação juá/solvente), 300 rpm, 15% Triton; e em relação as saponinas de sisal: 50°C; 4 h; 0,166 (relação sisal/solvente), 200 rpm, 7,5% Triton, obteve recuperações de 90,8 e 98,4%, respectivamente, sendo o método escolhido para concentração por ponto de névoa. Com os testes de alteração de atividade enzimática, hidrólise e síntese, as saponinas do juá e sisal podem ser aplicadas nas indústrias de alimentos, farmacêutica e de cosméticos.

[017] O documento de nº. EP2648742 refere-se a formulações compreendendo saponinas e suas utilizações em uma variedade de produtos cosméticos, terapêuticos e aplicações conservantes. Os inventores descobriram surpreendentemente que composições compreendendo uma mistura de extratos de plantas dos gêneros Lonicera, Populus e Wasabia, plantas ricas em saponinas, exibem pelo menos uma atividade biológica, por exemplo, atividade antimicrobiana. Sendo que atividade demonstrada é superior ao de cada componente individualmente e superior às alternativas químicas comerciais.

[018] Assim, é fato que os documentos citados nos parágrafos acima, apesar de pertencerem ao mesmo campo de aplicação, não apresentam nenhuma das características do método e composição inovados, especialmente, quanto ao material vegetal empregado, no caso, um resíduo obtido do processo de desfibramento das folhas do sisal garantindo, assim, que o mesmo atenda aos requisitos legais de patenteabilidade.

OBJETIVOS DA INVENÇÃO

[019] É objetivo da invenção apresentar um método de obtenção de shampoo contendo tensoativo natural, isento de sulfato e composição de shampoo resultante cuja tecnologia empregada no desenvolvimento do tensoativo natural do sisal é desenvolvida a partir de uma fonte renovável, obtida por meio de processos de baixo impacto ambiental, e possibilita atender a necessidade de mercado, ou seja, um produto de baixo custo, com efetiva capacidade de limpeza e menor poder de agressão sobre as células.

[020] Diante disso, a metodologia desenvolvida contribui de forma expressiva para o incremento social e econômico dos que dependem do sisal para sua subsistência,

especialmente, pela produção de resíduos de sisal no Brasil apresentar-se considerável e extremamente módica. A região sisaleira é uma das mais pobres do Brasil, assim o aproveitamento desse resíduo reflete positivamente na qualidade de vida das pessoas que dependem do sisal para sua subsistência.

[021] É objetivo da invenção apresentar uma composição de shampoo resultante que apresenta eficiência na limpeza, uma espuma de quantidade e qualidade satisfatória, grande desafio para formulações tensoativas livre de sulfato e uma excelente sensação de limpeza. Assim, a solução tensoativa natural do sisal pode ser utilizada em formulações farmacêuticas e cosmética sem substituição aos tensoativos sintéticos sulfatados, que agredem a pele e couro cabeludo, em especial o Lauril Éter Sulfato de Sódio.

[022] É objetivo da invenção apresentar uma composição de shampoo resultante de baixo custo, alta espumação, espesso, com menor detergência, ação limpadora mais suave e menor potencial de irritação no couro cabeludo. Se mostrando, portanto, de muito interessante para o tratamento do couro cabeludo com doença infecciosa ou couro cabeludo sensível. Também, levam ao menor desbotamento da cor em cabelos coloridos por tinturas permanentes e semipermanentes.

[023] Assim, o método de obtenção de shampoo contendo tensoativo natural, isento de sulfato e composição de shampoo se apresenta como uma importante opção para as indústrias farmacêuticas e cosméticas, pois além do aproveitamento de um surfactante vegetal, a saponina, cujo o poder de limpeza dessas moléculas é conhecido, está sendo apresentada através de uma nova formulação de limpeza do corpo e cabelo. Formulação isenta do tensoativo iônico sulfatado e com baixa concentração do tensoativo laurel glicosídeo, um surfactante não iônico, isento de solventes, e que se mostrou compatível com as saponinas.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[024] A complementar a presente descrição de modo a obter uma melhor compreensão das características do presente invento e de acordo com uma preferencial realização prática do mesmo, acompanha a descrição, em anexo, uma figura, onde, de maneira exemplificada, embora não limitativa, se representou:

[025] a figura 1 representa um diagrama de blocos das etapas que compõe o método inovado em questão.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[026] Com referência aos desenhos ilustrados, a presente patente de invenção se refere à “MÉTODO DE OBTENÇÃO DE SHAMPOO CONTENDO TENSOATIVO NATURAL, ISENTO DE SULFATO E COMPOSIÇÃO DE SHAMPOO RESULTANTE”, mais precisamente trata-se de método de obtenção de shampoo (10) e composição de shampoo resultante do tipo utilizado na indústrias farmacêutica e cosmética.

[027] Segundo a presente invenção, dito método de obtenção de shampoo (10) aproveita o descarte em forma de mucilagem – resíduos sólidos e líquidos - da folha do sisal após a retirada das fibras onde são adicionados tensoativos secundários constituindo uma solução tensoativa natural do sisal para a obtenção da composição de shampoo isento de Lauril Éter Sulfato de Sódio, sendo que dito método (10) compreende as etapas de preparação da solução tensoativa natural do sisal, quais sejam:

- i. Mistura da mucilagem úmida do sisal compreendida pela sobra da folha do sisal após a retirada das fibras, em etanol PA na proporção de 100 g de mucilagem para 300mL de etanol PA;
- ii. Promoção da agitação magnética da solução alcoólica da mucilagem do sisal por 30 minutos a 1500 rpm;
- iii. Separação da mucilagem, parte sólida, da parte líquida, por meio de uso de peneira granulométrica de aço inox 8X2" ASTM 60 MESH/TYLER 60 abertura 0,250 mm;
- iv. Rotaevaporação da parte líquida, obtida do processo de separação por peneira, a 78,5 °C, para eliminação do etanol PA e obtenção do extrato do sisal;
- v. Dissolução do extrato do sisal em 400 mL de água destilada, ou em quantidade suficiente para sua completa dissolução. Caso a dissolução não tenha sido total realizar a filtração à vácuo da solução, em papel filtro, para total remoção da parte sólida;
- vi. Redução da solubilidade das saponinas pela adição da acetona PA, na proporção de 1 parte de acetona para 4 da solução aquosa do extrato do sisal, ou seja, 100 mL de acetona em 400 mL da solução com o extrato;

- vii. Agitação da solução por 30 minutos a 1500 rpm;
- viii. Rotaevaporação da solução a 56°C para completa eliminação da acetona;
- ix. Ressuspensão do precipitado de saponinas em 10 mL de água destilada, ou em quantidade suficiente para retirar todo o precipitado do balão;
- x. Procedimento da filtração à vácuo com papel filtro para separação total do precipitado de saponinas;
- xi. Secagem do precipitado de saponinas retido no papel em estufa a 36°C;
- xii. Preparação da solução tensoativa do sisal dissolvendo 10 gramas do precipitado de saponinas em 100 mL de água destilada (solução a 10%).

- Pesquisa qualitativa de saponinas

[028] Foi fervida 1 g do precipitado de saponinas com 10 mL de água destilada por 3 minutos. A solução foi agitada energicamente, no sentido vertical, por 15 segundos e deixada em repouso por 15 minutos. Foi observada a presença ou não de espuma persistente (por 15 minutos). Depois foram adicionadas 5 gotas de ácido clorídrico 2M e, após agitação, foi observado se a espuma era persistente à presença da solução ácida. A reação positiva é quando ocorre a permanência da espuma e negativa quando ocorre o desaparecimento da espuma.

- Pesquisa Quantitativa de saponinas

[029] A presença e concentração de saponinas foram avaliadas por meio de análise espectrofotométrica, de acordo com as recomendações da literatura (CLARK et al., 1993; WATSON, 1999; VIGO; NARITA; MARQUES, 2003).

[030] A análise do precipitado de saponinas foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis. Uma alíquota de 1 ml do precipitado nas concentrações de 1mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25mg/ml e 0,125 mg/ml adicionada em 1 ml do reagente cromogênico cloreto de cobalto 0,2% e 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. A leitura da solução ocorreu em 284 nm após 20 minutos do início da reação para verificação das absorbâncias. A curva padrão foi elaborada com saponina padrão (Merck) solubilizada em água nas concentrações de 1mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25mg/ml e 0,125 mg/ml e 0,065 mg/ml.

- Teste de citotoxicidade do precipitado de saponinas pelo método do MTT [3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide]

[031] Esse teste foi realizado de acordo com o protocolo descrito por Mosmann (1983) com algumas modificações (TSUBOY et al., 2010).

[032] As células de fibroblastos normais murinos (linhagem NIH/3T3) foram cultivadas em frascos de cultura estéreis em meio de cultivo DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), suplementado com 10% de SFB (Soro Fetal Bovino), 1% de antibiótico/antimicótico e 3 g/L de glicose, incubado a 37°C em atmosfera umidificada a 5% de CO₂. Ao atingirem confluência de 60-80%, as células foram dissociadas com tripsina-EDTA, ressuspensas em meio completo e contadas em câmara de Neubauer. Este ensaio consistiu no plaqueamento das células de fibroblastos normais murinos numa densidade de 2×10^4 células/poço em placas de 96 poços. As placas de cultura foram então incubadas em estufa com 5% CO₂ a 37°C com umidade de 85%. Após uma confluência de aproximadamente 75% (durante a noite), estas células foram expostas a concentrações diferentes do precipitado de saponinas por 24 h, sendo 100 µL o volume final de cada poço.

[033] Foram testadas concentrações diferentes concentrações do precipitado de saponinas diluído em meio de cultura completo, além do controle negativo (apenas meio de cultura), do positivo (Tween 80 2% (v/v)). O tempo de tratamento escolhido foi 24 h.

[034] Decorrido o tempo de tratamento, o meio foi retirado e foi adicionado 100 µL de solução de MTT 0,5 mg/mL (CAS 298-93-1, Sigma Aldrich; 5 mg de MTT e 10 mL de meio de cultura sem soro) em cada um dos poços, sendo a placa incubada por 4 h a 37°C, 5% CO₂.

[035] Após este período, o sobrenadante foi descartado e foi adicionado 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) em cada um dos poços para solubilização dos cristais de formazan. Em seguida, a leitura da absorbância foi realizada em leitor de microplacas (PowerWave Epoch2, BioTek Instruments, EUA) a 570 nm.

A viabilidade celular foi calculada de acordo com a seguinte fórmula (HUANG; SHANG; ZHEN, 2005):

$$VC (\%) = AA/ACN \cdot 100 (2)$$

[036] Onde: VC é viabilidade celular (%); AA é a absorbância das amostras; ACN é a absorbância do controle negativo, todos a 570 nm.

- Análise Organoléptica

[037] A formulação foi observada visualmente quanto às alterações de cor, odor e homogeneidade semanalmente por 30 dias (CHORILLI et al., 2006; LEONARDI, 1997). As amostras foram mantidas a 4°C na geladeira, a 25°C (temperatura ambiente) e 40°C (estufa).

- Análise do pH

[038] A formulação foi diluída 1:10 em água destilada, para obter-se uma solução suficientemente aquosa. Então, o pH da solução foi medido nos 4 primeiros dias e após este período, semanalmente até o 30º dia, sendo este teste realizado em triplicata (LEONARDI, 1997). Esta medição se deu por meio do medidor de pH digital (TECNAL), para analisar a variação de pH sob as temperaturas 4°C, 25°C e 40°C ao longo dos 30 dias.

- Análise da Viscosidade

[039] A viscosidade foi determinada por meio da utilização do viscosímetro universal rotativo e as amostras foram analisadas nos 4 primeiros dias e após este período, semanalmente até o 30º dia. Esta medição foi feita para ser analisada a variação da viscosidade sob a temperatura de 25°C.

[040] Os ingredientes que configuram a composição do shampoo resultante isento de Lauril Éter Sulfato de Sódio são compreendidos por: i) Solução tensoativa de saponinas do sisal; ii) Lauril glicosídeo; iii) Cocamido propil betaina; iv) Carbopol SF – 1 Aqua; v) Trietanolamina; vi) Poliquartênio 7; vii) Metilparabeno; viii) Fragrância; ix) Água destilada.

[041] Tendo sido descrito os ingredientes, deve ser compreendido que os mesmos podem sofrer variações quantitativas e numa opção preferencial de porcentagem:

Solução tensoativa de saponinas do sisal a 10%	10%
Lauril glicosídeo	9%

Cocamido propil betaina	10%
Carbopol SF – 1 Aqua	5%
Trietanolamina	0,3%
Poliquartênio 7	1%
Metilparabeno	0,1%
Fragrância	0,3%
Água destilada	Qsp 100 mL

[042] É certo que quando o presente invento for colocado em prática, poderão ser introduzidas modificações no que se refere a certos detalhes, sem que isso implique afastar-se dos princípios fundamentais que estão claramente substantiados no quadro reivindicatório, ficando assim entendido que a terminologia empregada não teve a finalidade de limitação.

REIVINDICAÇÕES

1) **“MÉTODO DE OBTENÇÃO DE SHAMPOO CONTENDO TENSOATIVO NATURAL, ISENTO DE SULFATO E COMPOSIÇÃO DE SHAMPOO RESULTANTE”**, mais precisamente trata-se de método de obtenção de shampoo (10) e composição de shampoo resultante do tipo utilizado nas indústrias farmacêutica e cosmética; caracterizado por método de obtenção de shampoo (10) aproveitar o descarte em forma de mucilagem – resíduos sólidos e líquidos - da folha do sisal após a retirada das fibras onde são adicionados tensoativos secundários constituindo uma solução tensoativa natural do sisal para a obtenção da composição de shampoo isento de Lauril Éter Sulfato de Sódio, sendo que dito método (10) compreende as etapas de preparação da solução tensoativa natural do sisal, quais sejam:

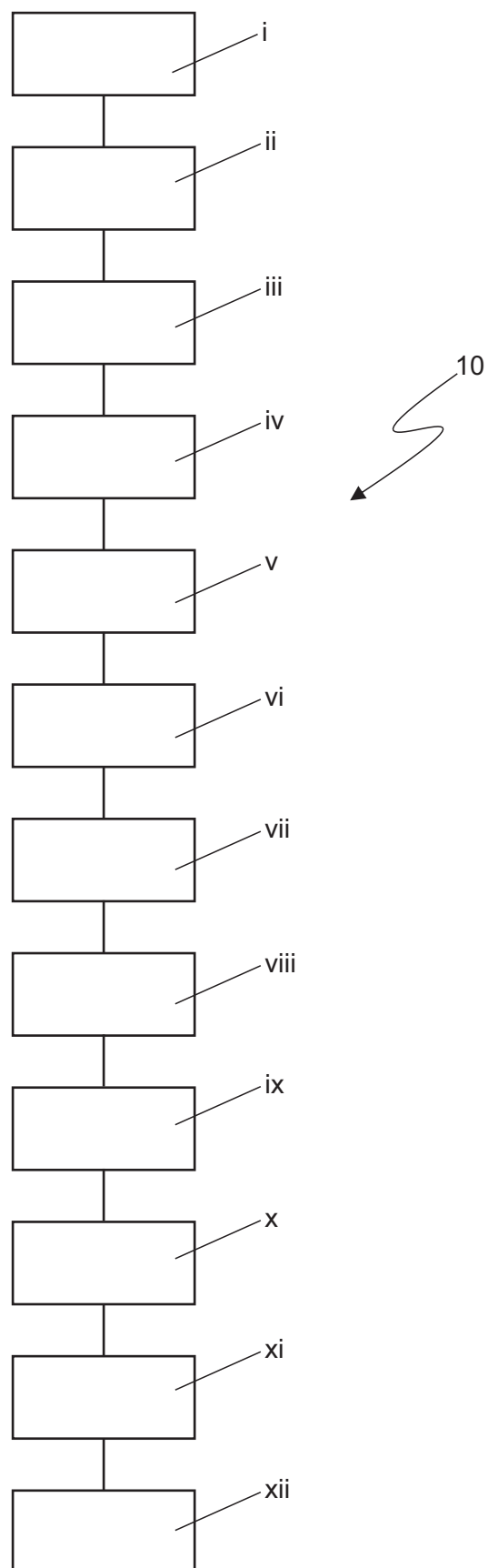
- i. mistura da mucilagem úmida do sisal compreendida pela sobra da folha do sisal após a retirada das fibras, em etanol PA na proporção de 100 g de mucilagem para 300mL de etanol PA;
- ii. promoção da agitação magnética da solução alcoólica da mucilagem do sisal por 30 minutos a 1500 rpm;
- iii. separação da mucilagem, parte sólida, da parte líquida, por meio de uso de peneira granulométrica de aço inox 8X2" abertura 0,250 mm;
- iv. rotaevaporação da parte líquida, obtida do processo de separação por peneira, a 78,5°C, para eliminação do etanol PA e obtenção do extrato do sisal;
- v. dissolução do extrato do sisal em 400 mL de água destilada ou em quantidade suficiente para sua completa dissolução; caso a dissolução não tenha sido total realizar a filtração à vácuo da solução, em papel filtro, para total remoção da parte sólida;
- vi. redução da solubilidade das saponinas pela adição da acetona PA, na proporção de 1 parte de acetona para 4 da solução aquosa do extrato do sisal, ou seja, 100 mL de acetona em 400 mL da solução com o extrato;
- vii. agitação da solução por 30 minutos a 1500 rpm;
- viii. rotaevaporação da solução a 56°C para completa eliminação da acetona;
- ix. ressuspensão do precipitado de saponinas em 10 mL de água destilada, ou em quantidade suficiente para retirar todo o precipitado do balão;

- x. procedimento da filtração à vácuo com papel filtro para separação total do precipitado de saponinas;
- xi. secagem do precipitado de saponinas retido no papel em estufa a 36°C;
- xii. preparação da solução tensoativa do sisal dissolvendo 10 gramas do precipitado de saponinas em 100 mL de água destilada (solução a 10%).

2) **“COMPOSIÇÃO DE SHAMPOO RESULTANTE”**, de acordo com a reivindicação 1 e numa opção preferencial, caracterizado por ingredientes que configuram a composição do shampoo resultante isento de Lauril Éter Sulfato de Sódio são compreendidos por solução tensoativa de saponinas do sisal; lauril glicosídeo; cocamido propil betaina; carbopol SF – 1 Aqua; trietanolamina; poliquartênio 7; metilparabeno; fragrância; água destilada.

3) **“COMPOSIÇÃO DE SHAMPOO RESULTANTE”**, de acordo com a reivindicação 2 e numa opção preferencial de porcentagem, caracterizado por ingredientes da composição de shampoo apresentarem as porcentagens de 10% de solução tensoativa de saponinas do sisal; 9% de lauril glicosídeo; 10% de cocamido propil betaina; 5% de carbopol SF – 1 Aqua; 0,3% de trietanolamina; 1% de poliquartênio 7; 0,1% de metilparabeno; 0,3% de fragrância; 100 mL de água destilada.

FIG.1



RESUMO

“MÉTODO DE OBTENÇÃO DE SHAMPOO CONTENDO TENSOATIVO NATURAL, ISENTO DE SULFATO E COMPOSIÇÃO DE SHAMPOO RESULTANTE”.

Trata-se de método de obtenção de shampoo (10) e composição de shampoo resultante do tipo utilizado nas indústrias farmacêutica e cosmética; dito método de obtenção de shampoo (10) aproveita o descarte em forma de mucilagem – resíduos sólidos e líquidos - da folha do sisal após a retirada das fibras onde são adicionados tensoativos secundários constituindo uma solução tensoativa natural do sisal para a obtenção da composição de shampoo isento de Lauril Éter Sulfato de Sódio.