

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Tese** será disponibilizado somente a partir de 13/07/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



**Estudo da Eficácia e Segurança *in vitro* do ácido
gentísico incorporado em emulsões para
administração cutânea**

Luciano Borges Cunha

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Corrêa

Araraquara – SP

2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Campus de Araraquara

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas



Estudo da Eficácia e Segurança *in vitro* do ácido gentísico incorporado em emulsões para administração cutânea

Luciano Borges Cunha

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas,
Área de Pesquisa e Desenvolvimento de
Fármacos e Medicamentos, para obtenção do
título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Corrêa

Araraquara – SP

2023

C972e Cunha, Luciano Borges.
Estudo da eficácia e segurança *in vitro* do ácido gentísico
incorporado em emulsões para administração cutânea / Luciano
Borges Cunha. – Araraquara: [s.n.], 2023.
167 f. : il.

Orientador: Marcos Antonio Corrêa.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de
Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de
Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Área de Pesquisa e
Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos.

1. Ácido gentísico. 2. Emulsão. 3. IVRT. 4. Fluorescência. 5.
Atividade antioxidante. 6. DPPH. 7. *Staphylococcus aureus*. 8.
Escherichia coli. 9. *Candida albicans*. 10. *Cutibacterium acnes*. I. Corrêa,
Marcos Antonio, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030078P6
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Estudo da Eficácia e Segurança in vitro do ácido gentísico objetivando sua aplicação em preparação para administração cutânea

AUTOR: LUCIANO BORGES CUNHA

ORIENTADOR: MARCOS ANTONIO CORRÊA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências, área: Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARCOS ANTONIO CORRÊA (Participação Virtual)

Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciencias Farmaceuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Profa. Dra. MARILISA GUIMARÃES LARA (Participação Virtual)

Departamento de Ciências Farmacêuticas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da USP

Profª. Drª. ANDRÉIA BAGLIOTTI MENEGUIN (Participação Virtual)

Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da Unesp

Araraquara, 13 de julho de 2023

DEDICATÓRIA

Aos Professores que passaram pela minha vida, pessoas extremamente honradas que contribuem para a edificação de uma nação.
À minha família que sempre me suportou na construção de uma história de vida.
A Deus e aqueles que nos protegem que são o farol que dá a direção na escuridão.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcos Antonio Corrêa, pelo excelente acolhimento, suporte e sua exímia maneira de compartilhar conhecimento. À Prof. Dra. Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro e sua equipe Eloah Drudi Lepore, Camila Cristina Baccetti Medeiros e Rodrigo Sorrechia pela dedicação e ajuda sensacional nas análises microbiológicas em um projeto bem atípico. Ao Prof. Dr. Marlus Chorilli e Jonatas Lobato Duarte pela ajuda no desvendar do equipamento de permeação. Ao Prof. Dr. Fernando Lucas Primo pela receptividade no departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. A Profa. Dra. Valéria de Carvalho Santos Ebinuma pela sensacional ajuda na parte analítica e a habilidade ímpar em compartilhar recursos e fazê-los multiplicarem. À Dra. Nathalia Vieira Veríssimo pelas explicações riquíssimas em fluorescência. À Ilza Yogui pela habilidade em abrir portas para o projeto, ao Caio Humberto Perego pelo seu positivismo e energia sem igual para solução de problemas, ao Vinícius Paschoalini Silva exímia parceria nos cromatógrafos e a Dra. Ana Lúcia Martiniano Nasser pelos conselhos valiosos.

À centenária instituição Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Campus de Araraquara.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

EPÍGRAFE

Mar calmo nunca fez bom marinheiro.
(provérbio popular)

RESUMO

A aplicação tópica do ácido gentísico é de interesse tanto acadêmico quanto mercadológico visto o amplo espectro de funções. Já foram identificadas atividades como: adstringente, antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral dentre outras. Além das funções é importante elucidar as possíveis formas de administração do fármaco. Neste trabalho, desenvolveu-se emulsões com ácido gentísico onde se avaliou sua estabilidade e o processo de liberação do ativo. Como parâmetros de eficácia avaliou-se o potencial antioxidante e antimicrobiano. Já em termos de segurança o potencial citotóxico. Na quantificação do ativo houve o desenvolvimento de três metodologias analíticas. A mais eficiente, a espectrofotometria de fluorescência, foi validada com limites de detecção de 1,01 e quantificação de 3,07 µg/L. Os resultados foram: atividade antioxidante medida pelo método cinético de DPPH com a razão molar, EC_{50} de 0,09, *antioxidant reducing power* (ARP) de 11,1; a concentração inibitória mínima (MIC) frente ao *Staphylococcus aureus* foi $4,15 \pm 0,09$ mg/mL, *Escherichia coli* foi $4,00 \pm 0,69$ mg/mL, *Candida albicans* foi $3,00 \pm 0,26$ mg/mL e *Cutibacterium acnes* de $3,60 \pm 0,0$ mg/mL; concentrações até 10,0; 7,3 e 4,0 mM não apresentaram citotoxicidade para as células HaCat, HDFa e HepG2, respectivamente, por método NRU; as emulsões possuem processo de liberação (IVRT) seguindo modelo de Higuchi até 2 horas, e após isso modelo de Korsmeyer-Peppas com K de 18,2529 e n de 0,4930. A substância apresenta potencial para administração cutânea com ação antioxidante e potencial citoprotetor em baixas concentrações.

Palavras-chave: ácido gentísico; emulsão; IVRT; fluorescência; atividade antioxidante, DPPH; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Candida albicans*; *Cutibacterium acnes*

ABSTRACT

The Gentisic Acid topical application is academic and marketing interest given the broad spectrum of pharmaceutical functions. Activities such as astringent, antioxidant, anti-inflammatory, antitumor and others have already been identified. In addition to the functions, it is important to elucidate the possible forms of drug delivery. In this work, Gentisic Acid emulsions were developed, and their stability and the process of active ingredient release were evaluated. The antioxidant and antimicrobial potential were evaluated as efficacy parameters. The cytotoxic potential was assessed as a safety item. There were developed three analytical methodologies to proper measure active principal. The most efficient analytical method, fluorescence spectrophotometry, was validated with detection limit of 1.01 and quantification limit of 3.07 $\mu\text{g/L}$. The antioxidant activity molar ratio measured by DPPH kinetic method, EC_{50} were 0.09, antioxidant reducing power (ARP) of 11.1. The minimum inhibitory concentration (MIC) against *Staphylococcus aureus* was 4.15 ± 0.09 mg/mL, *Escherichia coli* was 4.00 ± 0.69 mg/mL, *Candida albicans* was 3.00 ± 0.26 mg/mL and *Cutibacterium acnes* was 3.60 ± 0.0 mg/mL. The substance hasn't been showing NRU cytotoxicity against HaCat, HDFa and HepG2 cell in concentrations up to 10.0; 7.3 and 4.0 mM, respectively. The emulsions releasing process assessed by IVRT method follow Higuchi's model up to 2 hours and after that Korsmeyer-Peppas's model with K of 18.2529 and n of 0.4930. The substance has been showed potential for cutaneous administration with antioxidant action and cytoprotective potential in low concentrations.

Keywords: Gentisic acid; emulsion; IVRT; fluorescence; antioxidant activity by DPPH kinetic method; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Candida albicans*; *Cutibacterium acnes*

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1-1 Ilustração esquemática das grandes divisões cutâneas.	26
Figura 2.6-1 Fórmula espacial do ácido gentísico.	50
Figura 2.6-2 Fórmula estrutural do ácido gentísico.	50
Figura 2.6-3 Dissociação do ácido gentísico com a indicação dos respectivos pKa.	50
Figura 4.2-1 Exemplo de formatação e concentrações para placa de 24 poços para determinação da concentração inibitória mínima.	67
Figura 5.1-1 Espectro de absorção exploratório entre 220 e 1000 nm para diferentes soluções de ácido gentísico.	73
Figura 5.1-2 Espectro de absorbância entre 220 e 400 nm para soluções de ácido gentísico entre 3,015 e 30,15 mg/L em etanol 50% (v/v) com água tamponada em pH 6,6.	74
Figura 5.1-3 Espectro de absorbância entre 220 e 400 nm para soluções de ácido gentísico entre 3,0 e 30 mg/L em etanol 50% (v/v) com água tamponada em pH 2,2.	75
Figura 5.1-4 Curva de calibração para da concentração da ácido gentísico em função da absorbância nos comprimentos de onda 230, 232, 235, 320 e 322 nm para soluções com etanol 50% e água tamponada com fosfato pH 6,6.	77
Figura 5.1-5 Curva de calibração da concentração da ácido gentísico em função da absorbância nos comprimentos de onda 230, 232, 235, 327 e 329 nm para soluções com etanol 50% e água tamponada com fosfato pH 2,2.	77
Figura 5.2-1 Cromatograma comparativo entre injeções com 50 e 100 µg/mL de ácido gentísico.	81
Figura 5.2-2 Cromatograma limitado a 15 min de corrida. Comparação entre injeções com 50 e 100 µg/mL de ácido gentísico.	82
Figura 5.2-3 Picos cromatográficos em evidências de variação do tempo de retenção.	83
Figura 5.2-4 Cromatogramas utilizando ácido fosfórico como controle de ionização.	84
Figura 5.2-5 Picos cromatográficos do ácido gentísico usando ácido fosfórico como controle de ionização.	85
Figura 5.2-6 Comparação dos cromatogramas dos padrões de ácido gentísico usando ácido fórmico e ácido trifluoroacético como controle de ionização.	87
Figura 5.3-1 Espectro de fluorescência de varredura em excitação e emissão para solução de 0,6 mg/L de ácido gentísico.	88
Figura 5.3-2 Espectro de fluorescência de varredura em excitação e emissão para solução de 0,3 mg/L de ácido gentísico.	88
Figura 5.3-3 Espectro de fluorescência de varredura em excitação e emissão para solução de 0,12 mg/L de ácido gentísico.	89

Figura 5.3-4 Representação tridimensional da emissão de fluorescência em função do comprimento de onda de emissão e excitação para o ácido gentísico a 0,12 mg/L.	90
Figura 5.3-5 Espectro de fluorescência para diversas concentrações de ácido gentísico.	92
Figura 5.3-6 Curva de calibração da Intensidade de fluorescência em função da concentração.	93
Figura 5.3-7 Representação gráfica dos resíduos do ajuste linear em função da concentração.	94
Figura 5.4-1 Placa 24 poços para <i>S. aureus</i> vs. Ampicilina.	98
Figura 5.4-2 Placa 24 poços para <i>E. coli</i> vs. Ampicilina.	99
Figura 5.4-3 Placa 24 poços para <i>Candida albicans</i> vs. Fluconazol.	100
Figura 5.4-4 Placa 24 poços para <i>Cutibacterium acnes</i> vs. Ampicilina.	101
Figura 5.5-1 Superfície de resposta da absorção da reação de ácido gentísico 170 μ M com DPPH em função do tempo e comprimento de onda.	103
Figura 5.5-2 Superfície de resposta para diferentes concentrações de ácido gentísico em meio reacional com o radical DPPH em função do tempo e comprimento de onda.	104
Figura 5.5-3 Inibição percentual do radical em função do tempo de reação.	105
Figura 5.5-4 Extrapolação logarítmica para obtenção de estimativa de RSA no estado estacionário.	106
Figura 5.5-5 Porcentagem de Inibição do DPPH em função da razão molar.	106
Figura 5.5-6 Superfície de resposta da reação do DPPH com ácido ascórbico 180 mM pelo tempo e comprimento de onda.	108
Figura 5.5-7 Superfície de resposta do DPPH com ácido ascórbico 180 mM vs. Tempo vs. Comprimento de onda.	109
Figura 5.5-8 Porcentagem de inibição do radical DPPH para 15 razões molares testadas.	110
Figura 5.5-9 Porcentagem de Inibição do DPPH para razões molares de até 1,5 vezes.	111
Figura 5.6-1 Viabilidade das células HaCat frente ao ácido gentísico.	112
Figura 5.6-2 Viabilidade celular HaCat vs. ácido gentísico.	112
Figura 5.6-3 Viabilidade das células HDFa contra o ácido gentísico.	114
Figura 5.6-4 Comportamento da viabilidade celular de HDFa pela concentração de ácido gentísico	114
Figura 5.6-5 Viabilidade celular para HepG2 pela concentração de ácido gentísico.	115
Figura 5.8-1 Liberação mássica do ácido gentísico em função do tempo para formulações F8 e F10.	120
Figura 5.8-2 Liberação percentual das emulsões de ácido gentísico em função do tempo.	121

Figura 5.8-3 Representação da liberação percentual em função da raiz quadrada do tempo.	122
Figura 5.8-4 Logaritmo neperiano da liberação percentual em função do tempo. ..	123
Figura 5.8-5 Representação bilogarítmico neperiano da liberação percentual em função do tempo para verificação do modelo de Korsmeyer-Peppas.	124

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1-1 Temperatura em °C da superfície da pele em função do segmento corporal.	25
Tabela 2.1-2 pH da superfície da pele nos segmentos da cabeça, pescoço e antebraço.	31
Tabela 2.4-1 Concentração inibitória mínima (MIC) do ácido gentísico frente o <i>Staphylococcus aureus</i>	38
Tabela 2.4-2 Concentração inibitória mínima (MIC) do ácido gentísico frente o <i>Escherichia coli</i>	40
Tabela 2.4-3 Concentração inibitória mínima (MIC) do ácido gentísico frente a <i>Candida albicans</i>	41
Tabela 2.6-1 Referências do ácido gentísico em diversas instituições.	49
Tabela 2.6-2 Logaritmo da constante de dissociação ácida segundo cada autor.	50
Tabela 4.1-1 Principais reagentes utilizados.	52
Tabela 4.1-2 Principais materiais auxiliares utilizados.	52
Tabela 4.1-3 Material microbiológico utilizado.....	53
Tabela 4.1-4 Principais equipamentos utilizados.	53
Tabela 4.2-1 Composição em percentual mássica das emulsões.....	59
Tabela 4.2-2 Condições ambientais e frequência de análise para estudo de estabilidade.	61
Tabela 5.1-1 Parâmetros do modelo de regressão linear por comprimento de onda e pH.....	78
Tabela 5.3-1 Resumo dos parâmetros de regressão linear para as três curvas de calibração.....	93
Tabela 5.3-2 Resultado dos testes de heterocedasticidade calculado via software..	94
Tabela 5.3-3 Resultados dos testes de normalidade para os resíduos.....	95
Tabela 5.3-4 Resultado do ensaio de especificidade ou seletividade do método de espectrofotometria de fluorescência.....	96
Tabela 5.3-5 Precisão do método de espectrofotometria de fluorescência por faixa de concentração.....	96
Tabela 5.3-6 Exatidão do método de espectrofotometria de fluorescência.....	97
Tabela 5.7-1 Fórmulas inicialmente testadas.....	117
Tabela 5.7-2 Formulações geradas para maior solubilidade em etanol e maior viscosidade.....	118
Tabela 5.8-1 Resultado do ensaio de solubilidade do ácido gentísico para concentrações de etanol.	119
Tabela 5.8-2 Resultado da regressão linear para modelo de ordem zero.....	121

Tabela 5.8-3 Resultado da regressão linear para modelo de Higuchi para liberação percentual para dois períodos de liberação.	122
Tabela 5.8-4 Parâmetros da regressão linear para o modelo de primeira ordem. ...	123
Tabela 5.8-5 Parâmetros da regressão linear para verificação do modelo de Korsmeyer-Peppas.	124
Tabela 5.9-1 Dados descritivos do pH das emulsões F8 a F11 por condição ambiental e tempo de estudo.	125
Tabela 5.9-2 Teste de esfericidade para o pH.	127
Tabela 5.9-3 Resultado rANOVA do tempo de estabilidade com a variável pH.	128
Tabela 5.9-4 Dados descritivos da densidade (g/cm ³) das emulsões F8 a F11 por condição ambiental e tempo de estudo.	128
Tabela 5.9-5 Análise de esfericidade para densidade.	130
Tabela 5.9-6 Resultado da rANOVA do tempo de estabilidade para densidade	130
Tabela 5.9-7 Dados Descritivos para a Viscosidade (mPa.s).	131
Tabela 5.9-8 Teste de esfericidade para a variável viscosidade	132
Tabela 5.9-9 Resultado da rANOVA para o tempo de estabilidade para a variável viscosidade.	133
Tabela 5.9-10 Dados Descritivos para a teor de ácido gentísico (%)	133
Tabela 5.9-11 Teste de esfericidade para o teor de ácido gentísico.	135
Tabela 5.9-12 Resultado da rANOVA para o tempo de estabilidade para a variável teor de ácido gentísico.	135
Tabela 5.9-13 Resultado da avaliação do parâmetro organoléptico odor.	136
Tabela 5.9-14 Resultado da avaliação do parâmetro organoléptico aspecto.	137
Tabela 5.9-15 Resultado da avaliação do parâmetro organoléptico cor.	138
Tabela 8.5-1 Dados da curva de calibração da concentração de ácido gentísico em função da intensidade de fluorescência, resíduo e resíduo padronizado.	168

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AG – Ácido gentísico

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC – *American Type Culture Collection*

C. acnes – *Cutibacterium acnes*

C. albicans – *Candida albicans*

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA - *Deoxyribonucleic Acid*

DPPH – Substância química 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

DPR – Desvio Padrão Relativo

E. coli – *Escherichia coli*

FDA – *Food and Drug Administration*

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IVRT – *In vitro release testing* ou teste de liberação *in vitro*

m/m – Razão mássica ou porcentagem mássica.

MIC – Minimum Inhibitory Concentration, que em português é relativo a Concentração Inibitória Mínima

OECD - *Economic Cooperation and Development*

PA – Refere-se a reagentes com grau de pureza para análise

pKa – Constante de dissociação ácida

qsp – Quantidade suficiente para

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

S. epidermidis – *Staphylococcus epidermidis*

UFC – Unidades Formadoras de Colônia

UV – Região do Espectro eletromagnético relativo aos comprimentos de onda ultravioleta

UV/Vis – Região do Espectro eletromagnético relativo aos comprimentos de onda ultravioleta e visíveis

v/v – Razão volumétrica ou porcentagem volumétrica.

Vis – Região do Espectro eletromagnético relativo aos comprimentos de onda visíveis

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
2.1	A pele	23
2.1.1	Função de termorregulação.....	24
2.1.2	A estrutura da pele	25
2.1.2.1	Epiderme.....	26
2.1.2.2	Derme	28
2.1.3	pH da Pele.....	29
2.2	Envelhecimento.....	32
2.3	Microbiota da pele.....	34
2.4	Microrganismos de estudo	37
2.4.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	37
2.4.2	<i>Escherichia coli</i>	39
2.4.3	<i>Candida albicans</i>	40
2.4.4	<i>Cutibacterium acnes</i>	41
2.5	Liberação de ativos de formulações semissólidas	42
2.5.1	Células de liberação	44
2.5.2	Modelos matemáticos para mecanismo de liberação	45
2.6	O ácido gentísico	47
2.6.1	Funções de interesse farmacêutico	47
2.6.2	Nomenclatura e números de registro.....	48
2.6.3	Fórmula e características físico-químicas.....	49
3	OBJETIVOS	51
4	MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1	Materiais.....	51
4.1.1	Reagentes e materiais gerais	51
4.1.2	Material microbiológico	52
4.1.3	Equipamentos.....	53
4.1.4	Software	54
4.2	Métodos	54
4.2.1	Espectrofotometria de absorção visível e ultravioleta.....	54
4.2.2	Espectrofotometria de fluorescência.....	55
4.2.3	Desenvolvimento e validação de metodologia analítica	56
4.2.3.1	Validação da metodologia analítica.....	56
4.2.3.2	Linearidade	56
4.2.3.3	Especificidade ou seletividade	57
4.2.3.4	Exatidão	57
4.2.3.5	Precisão	58
4.2.3.6	Limite de detecção e de quantificação	58
4.2.4	Desenvolvimento das formulações.....	59
4.2.4.1	Procedimento de preparação das emulsões.....	59
4.2.4.2	Teste de estabilidade mecânica e homogeneidade	60
4.2.5	Estudo de Estabilidade Físico-Química.....	60
4.2.5.1	Análise de pH de emulsões.....	61
4.2.5.2	Análise de Densidade e Viscosidade das emulsões	61

4.2.6	Concentração de ácido gentísico de emulsões	61
4.2.7	Avaliação do potencial antioxidante por método cinético	62
4.2.7.1	Curva de calibração de DPPH	62
4.2.7.2	Curva cinética de sequestro de radical DPPH	63
4.2.7.3	Cálculo dos parâmetros	63
4.2.8	Determinação da atividade antimicrobiana	64
4.2.9	Avaliação do potencial citotóxico	67
4.2.9.1	Potencial citotóxico <i>in vitro</i> por meio de NRU	67
4.2.10	Estudos de liberação <i>in vitro</i> (IVRT)	69
4.2.10.1	Solubilidade do ativo no meio ou <i>sink conditions</i>	69
4.2.10.2	Escolha do meio receptor	69
4.2.10.3	Configuração e dimensões do equipamento de teste	69
4.2.11	Análise dos resultados	70
4.2.11.1	Regressão linear	70
4.2.11.2	Teste de homoscedasticidade e heterocedasticidade	70
4.2.11.3	Teste de normalidade	71
4.2.11.4	Teste de autocorrelação	71
4.2.11.5	Crerios específicos	72
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
5.1	Espectrofotometria de absorção na banda espectral visível e ultravioleta ...	72
5.2	Cromatografia líquida de alta eficiência com uso de detector UV	79
5.3	Espectrofotometria de fluorescência	88
5.3.1	Curva de calibração	91
5.3.2	Análise de homoscedasticidade vs. heterocedasticidade	94
5.3.3	Avaliação da normalidade dos resíduos	95
5.3.4	Limites de quantificação e detecção	95
5.3.5	Especificidade ou seletividade	95
5.3.6	Precisão	96
5.3.7	Exatidão	97
5.4	Avaliação do potencial antimicrobiano	97
5.4.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	97
5.4.2	<i>Escherichia coli</i>	99
5.4.3	<i>Candida albicans</i>	100
5.4.4	<i>Cutibacterium acnes</i>	101
5.5	Avaliação do potencial antioxidante	102
5.6	Avaliação do potencial citotóxico	111
5.7	Desenvolvimento das emulsões	116
5.8	Estudo de liberação <i>in vitro</i> (IVRT)	119
5.8.1	Solubilidade do ativo investigação de <i>sink condition</i>	119
5.8.2	Ensaio de emulsões de ácido gentísico em célula de Franz	120
5.9	Estudo de estabilidade físico-química	125
5.9.1	Estabilidade dos parâmetros físico-químicos	125
5.9.1.1	pH	125
5.9.1.2	Densidade	128
5.9.1.3	Viscosidade	131
5.9.1.4	Concentração de ácido gentísico	133
5.9.2	Estabilidade dos parâmetros organolépticos	136
5.9.2.1	Odor	136
5.9.2.2	Aspecto	136
5.9.2.3	Cor	137

6	CONCLUSÃO	138
7	REFERÊNCIAS.....	140
8	APÊNDICES	164
8.1	Regressão linear para calibração de calibração 1	164
8.2	Regressão linear para calibração de calibração 2	165
8.3	Regressão linear para calibração de calibração 3	166
8.4	Regressão linear para calibração de calibração média.....	167
8.5	Resíduos da curva de calibração ácido gentísico por fluorescência	168

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população acima dos 40 anos é expressivo no Brasil. No ano 2000 essa faixa etária correspondia a 26,6%, já em 2020, 38,9%, sendo a projeção para 2030 cerca de 46,1%, ou seja, no período de 20 anos, a parcela de maiores de 40 anos aumentou 12,3%, (IBGE, 2020), e segundo as expectativas este crescimento para os próximos 10 anos será superior a 7%. Esses números ratificam não só a importância de entender melhor o processo de envelhecimento e criar possíveis alternativas para oferecer melhor qualidade de vida a esta população, como também desenvolver produtos com características técnicas específicas para essa população envelhecendo.

No cenário do envelhecimento da população faz sentido a busca de ativos ou qualquer outro dispositivo de saúde que previna ou trate os inconvenientes que o avançar da idade traz.

A pele, como o órgão externo, ganha atenção já que evidencia as marcas da idade e como os anos foram vividos. O estudo de aplicações tópicas que visam a melhor aparência e funcionamento da pele são importantes para que, de forma preventiva ou corretiva, esse órgão, além de cumprir suas funções fisiológicas, possa também, ser fonte de bem-estar tanto físico como psicológico.

No entanto, a proposta de dispositivos de saúde para a finalidade de proporcionar bem-estar não deve ser feita a esmo, mas sim usando do processo científico. A construção do conhecimento objetivando oferecer produtos ou serviços que possuem evidências comprovadas de segurança e eficácia naquilo que se propõe a fazer são conceitos indissociáveis no desenvolvimento de novos produtos. Exatamente neste contexto que esta pesquisa se encaixa, visando contribuir com

evidências para o processo de entendimento se o ácido gentísico é ou não uma alternativa segura e eficaz para a aplicação tópica.

Um promissor ativo de interesse farmacêutico e cosmético, o ácido gentísico apresentou evidências científicas como antioxidante, analgésico, anti-inflamatório, anticancerígeno, dentre outras apresentadas ao longo do trabalho, assim a investigação se essa substância pode ser usada para administração cutânea é de interesse científico e prático.

Não obstante, não basta investigar apenas o ativo, mas também é necessário elucidar uma forma de utilizá-lo. A aplicação de uma substância pura sobre a pele pode não ser a forma mais eficiente de administração. O fato de uma substância não estar dispersa em um meio gera uma alta concentração pontual. Isso pode ser nocivo ao indivíduo e dependendo de parâmetros físico-químicos da substância também seria altamente ineficaz do ponto de vista farmacológico. Desta forma, o desenvolvimento de uma forma de administrar uma substância é algo tão importante quanto a descoberta de uma função farmacêutica. Assim, neste trabalho, investiga-se se o sistema emulsionado com ácido gentísico é uma forma possível de administração. Uma das principais perguntas é: A emulsão é capaz de liberar o princípio ativo? Gerando em seguida ainda outras: Em qual quantidade? De que forma? Perguntas que serão respondidas para este ativo tão promissor em emulsão.

Uma vez que a pele não é uma entidade estéril, mas sim o habitat para um ecossistema que quando em equilíbrio é benéfico para o ser humano, faz sentido esclarecer a interação entre o ativo que está sendo proposto e os representantes desta microbiota. Desta forma, elencou-se os microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Cutibacterium acnes* que são comumente

encontrados na microbiota cutânea, como alvo de estudo da interação destes microrganismos com o ácido genticólico.

A elucidação dos microrganismos versus o ativo também é de interesse de algo bem atual que é o fenômeno da resistência dos microrganismos aos agentes antimicrobianos, e que se tornou ainda mais relevante após a pandemia de COVID-19 que é evidenciado mais à frente no texto.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No intuito de suportar o desenvolvimento do trabalho de pesquisa revisou-se o estado atual dos principais assuntos que são de primordial importância para o sucesso do projeto.

2.1 A pele

O tecido que representa a pele humana corresponde de 5 a 16% do peso corporal e é considerado o maior órgão do corpo humano, envolve todo o corpo e tem diversas funções, sendo a principal delas servir de proteção na interface do ambiente interno e externo, (CORRÊA, 2012; DORADO; FRAILE, 2021; RICHARDSON, 2003; VENUS *et al.*, 2010).

O ambiente externo apresenta condições adversas à fisiologia humana com a presença de agentes químicos, físicos e biológicos. A proteção química está associada com a função de barreira contra substâncias diversas presentes no ambiente exterior. Já a proteção física atua mecanicamente contra o atrito e impacto, além da atuação contra determinados tipos de radiações, principalmente do espectro ultravioleta (UV). No caso da proteção contra agentes biológicos, a pele serve não só como barreira contra patógenos, mas também é um ambiente onde estabelece relações de simbiose com diversos agentes microbiológicos, função essa que é profundamente estudada atualmente, (CORRÊA, 2012; MCKNIGHT *et al.*, 2022).

2.1.1 Função de termorregulação

Além das funções de proteção, a termorregulação é outro papel primordial para o bom funcionamento da fisiologia humana. A temperatura corporal interna é mantida entre 36 e 38°C por meio de um sistema de controle que envolve a permeação seletiva da pele, o sistema muscular e o hipotálamo. Caso a temperatura corporal caia, o hipotálamo envia sinal bioquímico para haver uma constrição arterial com o objetivo de evitar a perda de calor por circulação sanguínea e, ao mesmo tempo, o sistema muscular é acionado gerando contrações e com isso gerar calor. No caso contrário, quando a temperatura está subindo acima do ideal, o hipotálamo usa o sistema bioquímico para gerar uma dilatação arterial, o que aumenta a circulação sanguínea nas extremidades, estimula as glândulas sudoríparas a produzirem suor e o processo evaporativo ou o escorrimento do líquido transfere a energia para o ambiente externo. Cada litro de suor evaporado transfere aproximadamente 580 kcal ao meio ambiente. O mecanismo de troca de energia com o meio exterior envolve a troca de calor sensível na superfície da pele por meio dos processos convectivos, condutivos e radiativos. O calor latente é trocado por meio da evaporação do suor e pela difusão de umidade da pele. Na condição neutra, em que o corpo não precisa usar do mecanismo de termorregulação intensamente, o processo de troca de calor sensível representa 75% do total de energia trocada sendo a troca por calor latente os outros 25%, (ARENS; ZHANG, 2006; MCKNIGHT *et al.*, 2022; SHRESTHA *et al.*, 2021).

Enquanto a temperatura corporal é mantida controlada em uma faixa relativamente estreita de 36 a 38 °C, o mesmo não se aplica à temperatura da pele, que varia segundo condições do ambiente e não é constante ao longo do corpo. Hui Zhang, em sua tese de Ph.D. na Universidade da Califórnia, em Berkeley, (ZHANG, 2003), coletou dados da temperatura da pele onde os voluntários vestiam uma fina

roupa em função da condição do ambiente. Os dados são reproduzidos de forma consolidada na Tabela 2.1-1.

Tabela 2.1-1 Temperatura em °C da superfície da pele em função do segmento corporal.

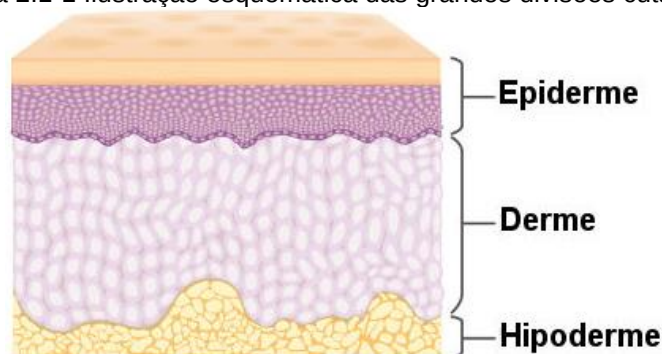
Segmento	Percepção da temperatura do ambiente externo		
	Fria	Neutra	Quente
Testa	30,7	35,8	36,5
Bochecha	27,7	35,2	36,3
Pescoço anterior	33,5	35,8	36,8
Pescoço posterior	34,5	35,4	36,1
Peito	30,9	35,1	36,1
Costas	32,4	35,3	36,3
Abdômen	28,7	35,3	36,2
Antebraço	24,7	34,2	36,4
Braço	27,3	34,6	36,1
Mão	23,1	34,4	36,0
Dedo	21,1	35,3	36,7
Coxa	27,0	34,3	35,6
Canela	26,5	32,9	34,4
Panturrilha	24,3	32,7	34,1
Pé	21,4	33,3	36,4
Média	27,6	34,6	36,0

Nota: cálculo da média e organização em tabela feita pelo autor. Dados oriundos de Zhang (2003).

2.1.2 A estrutura da pele

A estrutura da pele é composta de camadas que podem ser verificadas por ensaios histológicos. Existem duas ou três grandes divisões, dependendo do autor, a primeira camada mais superficial é a epiderme, e a segunda é a derme que é mais espessa e é onde está a maioria dos apêndices da pele. A terceira, que não faz parte do tecido tegumentar e por isso não é considerada parte da pele por alguns autores, é a hipoderme que é composta de tecido adiposo e tem grande variação de espessura de um indivíduo ao outro, (MARIEB *et al.*, 2014). A Figura 2.1-1 ilustra as estruturas brevemente descritas.

Figura 2.1-1 Ilustração esquemática das grandes divisões cutâneas.



Fonte: (SBD, 2022)

2.1.2.1 Epiderme

A epiderme é um plano queratinizado e estratificado que contém quatro classes de células que são: queratinócitos, melanócitos, células epiteliais táteis e células de Langerhans. A espessura da epiderme média é de 0,1 mm, mas nas regiões mais grossas, como a palma das mãos e a planta dos pés, varia entre 1 e 2 mm, já nas regiões mais finas como a pálpebra é de aproximadamente 0,03 mm. Esta camada é a que possui o maior número de células, composta majoritariamente por queratinócitos, e apresenta uma dinâmica de renovação celular intensa, (DORADO; FRAILE, 2021; YOUSEF *et al.*, 2023).

As subdivisões da epiderme dependem da região do corpo. Quando essa é delgada estão presentes quatro camadas, por vezes chamadas de estratos, já na pele espessa existem cinco camadas. Na interface com a derme está uma camada muito fina formada por apenas uma linha de células tronco com alta taxa de divisão celular e de formato cuboide. Essa linha de células é responsável por gerar os queratinócitos jovens. Nesta fronteira com a derme também estão presentes em bem menor número as células de Merkel, por vezes chamadas de células epiteliais táteis. Os melanócitos, que são responsáveis pela síntese da melanina, são entre 10 e 25% das células dessa camada. Uma vez a melanina produzida, essa migra para os queratinócitos, onde a substância agrupa-se sobre o núcleo celular protegendo o material genético da

radiação ultravioleta (UV). A essa camada, que representa o processo de nascimento celular dá-se o nome de camada germinativa, camada basal, estrato basal ou estrato germinativo, sendo essas quatro denominações consideradas sinônimos, (HONARI; MAIBACH, 2014; WAUGH; GRANT, 2018; YOUSEF *et al.*, 2023).

A próxima camada no sentido interface derme para a superfície da pele é a camada espinhosa ou estrato espinhoso. O nome se dá pelo fato dos desmossomos dos queratinócitos terem filamentos proteicos que atravessam a membrana plasmática da célula e ligam-se na membrana proteica do desmossomo do outro queratinócito, gerando uma estrutura intercelular, o que lembra espinhos. Os filamentos proteicos são compostos de queratina, placina e desmogleína. O citoplasma dos queratinócitos nesta camada são ricos em queratinas k1-k10. As células dendríticas também fazem parte do estrato espinhoso, mas em menor quantidade, estão ligadas ao sistema imunológico e fazem endocitose de algum antígeno que possa ter chegado até ela, (ALDEHLAWI *et al.*, 2020; FLORINDA, 2008; ISHIDA-YAMAMOTO *et al.*, 2000).

Continuando na sequência das camadas da epiderme em direção a superfície da pele agora temos a camada granulosa ou estrato granuloso. Nesta camada começa-se a queratinização das células. É a região mais distante da derme e recebe pouca nutrição levando a morte celular. As células adquirem formato pouco mais achatado, apresentando grânulos de querato-hialina, que é um precursor das queratinas k2 e k11, fazem exocitose de fosfolipídios, ceramidas e glicolipídios para o ambiente intercelular, o que gera uma barreira que dificulta e regula a passagem de água e outras substâncias. À medida que esse material excretado migra junto com as células para os estratos superiores forma-se uma espécie de adesivo que mantém as

células juntas e consolida a barreira que visa a impermeabilização da pele, (BEILIN *et al.*, 2020; MATOLTSY, 1975; SMACK *et al.*, 1994)

A próxima camada é o estrato lúcido, que só ocorre em regiões de pele espessa como a palmar e plantar e é caracterizada por ter células mortas, achatadas, onde a querato-hialina foi convertida em eleidina, substância de caráter oleoso que também é um precursor mais próximo da queratina. Tem por função impedir a perda de água.

A última camada da epiderme é a que faz fronteira com o ambiente externo que é o estrato córneo. É a camada mais espessa da epiderme possuindo entre 20 e 30 camadas de células mortas, anucleadas, bem achatadas, sendo que a área de uma só célula recobre aproximadamente 25 células basais, (CORRÊA, 2012). Possuem filamentos de queratina imersos em filagrina que passam a receber o nome de corneócitos dado o grau de diferenciação que atingiram. Os corneócitos que estão mais profundos no estrato córneo estão melhor aderidos uns aos outros e o espaço intercelular é bem preenchido com glicolipídio, que deixa a estrutura consideravelmente impermeável. À medida que vão se aproximando da superfície a adesão dos desmossomos diminui até chegarem a se soltar, o que gera a descamação da pele, (DORADO; FRAILE, 2021; MARIEB *et al.*, 2014).

2.1.2.2 Derme

No sentido do ambiente externo para o interno, após a epiderme, encontra-se a derme, que apresenta duas camadas: a mais superficial que é delgada e é chamada de papilar e a mais interna e espessa chamada de reticular, (CORRÊA, 2012). Essas camadas possuem fibroblastos distintos. Os que formam a papila dérmica são responsáveis pelo folículo piloso, o crescimento do pêlo ou cabelo e o músculo eretor. Já a derme reticular tem fibroblastos que excretam a maioria do material da matriz extracelular fibrosa, (DRISKELL *et al.*, 2013).

Em termos de espessura essa camada da pele pode variar de menos de 2 até 4 mm e é responsável pela maior parte da estrutura mecânica da pele, sendo a resistência contra ruptura de 5 até 27 MPa, (WONG *et al.*, 2016).

O processo de cicatrização da pele humana adulta os fibroblastos da derme são recrutados primeiramente e os superiores são requisitados durante a reepitelização. A ativação epidérmica da beta-catenina estimula a expansão da linhagem dérmica superior, (DRISKELL *et al.*, 2013)

2.1.3 pH da Pele

Em 1892 o médico alemão Ernst Heuss reporta um procedimento para determinação colorimétrica da acidez da pele e suor, e descobre que tanto a superfície da pele quanto o suor são ácidos (HEUSS, 1892). Vale lembrar que o conceito de ácido e base foi proposto por Antoine Lavoisier (1743-1794) e por muito tempo foi sendo aprimorado por grandes químicos como Svante Arrhenius (1859-1927), Gilbert Lewis (1875-1946) e Hermann Walther Nernst (1864-1941), sendo este último o que introduziu a ideia da medição da concentração de um íon pela diferença de potencial gerado em um eletrodo, mas foi Søren Peter Lauritz Sørensen (1868-1939) que apresentou a proposta de expressar acidez como o logaritmo negativo da concentração do íon de hidrogênio em água, conceito usado até hoje, (SURBER *et al.*, 2018). Nota-se que tanto o médico Heuss como os químicos Arrhenius, Lewis e Nernst viveram na mesma época e a medição da acidez da pele foi realizada em tempos que o próprio conceito de pH, ácido e base estavam sendo elucidados. Fato notável e um avanço considerável.

A descoberta de Heuss foi confirmada por Schade e Marchionini (1928), agora usando a escala de pH, e reporta além dos dados, a dificuldade metodológica de medir o pH da pele seca e da pele com suor concentrado. O título do artigo publicado foi

“Der Säuremantel der Haut”, que em tradução ao português seria “O manto ácido da pele”, criando assim um termo que foi muito usado como sinônimo de uma camada bioquímica que protege a pele: “manto ácido protetor” ou apenas “manto ácido”.

Alfred Marchionini junto com alguns colaboradores, nos anos de 1938 e 1939, reporta uma série de cinco artigos detalhando vários aspectos da pele, inclusive que as doenças cutâneas têm correlação com alterações de pH, que existem alterações quantitativas e qualitativas das bactérias que vivem sobre a pele com as mudanças do pH. Lesões cutâneas tem sua origem explicada em parte por uma alteração qualitativa dos microrganismos que vivem na pele e que produtos aplicados sobre esta podem alterar seu pH. Temas que lembram o que se discute hoje na vanguarda do estudo da cútis, mas apontados há cerca de 85 anos, (MARCHIONINI, 1938; MARCHIONINI *et al.*, 1938; MARCHIONINI; HAUSKNECHT, 1938; MARCHIONINI; SCHMIDT, 1938, 1939). A questão dos microrganismos que habitam a pele humana será avaliada no item 2.2.

Segger *et al.* (2008) realizaram um estudo multicêntrico com 222 voluntários sendo 147 mulheres e 75 homens, onde a média do pH cutâneo obtido foi 4,9 com intervalo de confiança de 95% entre 4,1 e 5,8.

Em outro estudo 20 voluntários saudáveis foram separados em dois grupos de 10 indivíduos, o grupo de adultos jovens com média $29,8 \pm 3,9$ anos ($\pm$ desvio padrão amostral) com amplitude de 24 a 34 anos, e no grupo de adultos idosos com média de $73,6 \pm 17,4$ anos, alcance de 66 a 83 anos. Mediu-se o pH de diversos segmentos como pode ser verificado na Tabela 2.1-2, nota-se o pH da pele idosa é ligeiramente menos ácida, (MARRAKCHI; MAIBACH, 2007).

Tabela 2.1-2 pH da superfície da pele nos segmentos da cabeça, pescoço e antebraço.

Segmento	Grupos	
	Adultos Jovens	Idosos
Testa	4,43 ± 0,44	5,19 ± 0,44
Pálpebra	4,62 ± 0,40	5,13 ± 0,49
Nariz	5,23 ± 0,55	5,39 ± 0,50
Bochecha	5,07 ± 0,45	5,47 ± 0,52
Nasolabial	5,17 ± 0,58	5,59 ± 0,51
Perioral	5,05 ± 0,48	5,35 ± 0,56
Queixo	5,55 ± 0,57	5,86 ± 0,31
Pescoço	5,20 ± 0,43	5,67 ± 0,49
Antebraço	5,30 ± 0,32	5,75 ± 0,43

Nota: Dados de Marrakchi e Maiback (2007). Organização em tabela feita pelo autor. Valores representam a média ± desvio padrão amostral.

A manutenção da função de barreira do estrato córneo é dependente do pH. A barreira lipofílica depende da síntese de ceramidas e estas por sua vez dependem de duas enzimas, a esfingomielinase acidificada e β -glucocerebrosidase, enzimas que possuem pH ótimo de atividade entre 4,5 e 5,5, respectivamente (RIPPKE *et al.*, 2002). Já o espaço extracelular do estrato córneo possui estruturas em organização lamelar com presença de cristais líquidos que dependem da ionização parcial dos ácidos graxos que se dá em pH entre 4,6 e 6, (BOUWSTRA *et al.*, 1998; FRIBERG, 1990; OSBORNE; FRIBERG, 1987).

Jean-Pierre Hachem, pesquisador da Universidade da Califórnia, em parceria com diversos pesquisadores, realizou ensaios em que a pele foi exposta a um pH mais alcalino, que mostrou o comprometimento da função de barreira, homeostase e integridade mecânica do estrato córneo. A causa é atribuída justamente pela baixa atividade das enzimas acima citadas, gerando uma reduzida taxa de síntese de ceramidas e o aumento da atividade das serino proteases, também conhecidas como enzimas proteolíticas, (HACHEM *et al.*, 2003, 2005).

As observações entre pH e patologias cutâneas não são poucas. No caso da Dermatite Atópica (DA), pacientes que apresentam lesões possuem pH da pele

ligeiramente mais elevado na região quando comparados com pacientes saudáveis, (CHOI *et al.*, 2003; DANBY; CORK, 2018; SEIDENARI; GIUSTI, 1995).

A Ictiose, que se caracteriza por um distúrbio de queratinização, pele seca, escamosa, com fissuras e geralmente associada a questões hereditárias, também apresentam pH mais elevado na região das lesões. Um agravante nos casos de Ictiose são as constantes infecções fúngicas que são facilitadas justamente pelo pH cutâneo mais alto que está relacionado com a menor capacidade da pele se defender nessas condições de pH, (DANBY; CORK, 2018; MIAO *et al.*, 2021; SCHMID-WENDTNER; KORTING, 2006).

2.2 Envelhecimento

O processo do envelhecimento é complexo e com muitas frentes de estudos, porém, ainda hoje, permanecem obscuras as razões que desencadeiam as alterações mecanobiológicas. Saindo da fase infantojuvenil, o organismo envelhece como um todo, levando a uma deterioração funcional, afetando tanto a vitalidade como o comportamento de órgãos e tecidos. Além disso, a debilidade atinge até o nível celular, suas organelas e o DNA, (BAJPAI *et al.*, 2021; SBD, 2023).

Um dos fatores do envelhecimento é a redução da capacidade da célula de se replicar corretamente, o que é conhecido como senescência celular. Ao passar dos anos, a participação das células em senescência tem maior proporção. As estruturas que ficam nas pontas dos cromossomos com a função de proteger da degradação por nucleases e manter a estabilidade do material genético, conhecidas como telômeros, e que não fazem parte do processo de transcrição, é perdida pouco a pouco cada vez que a célula se divide. Ao longo do tempo, após múltiplas divisões celulares, o telômero fica menor e fragmentos importantes do DNA são perdidos durante as próximas divisões, o que leva à perda da função celular, (SBD, 2023; ZHANG; DUAN,

2018). Durante o envelhecimento cutâneo, também ocorrem modificações do material genético acima citado. Dessa forma, o tecido perde sua elasticidade e capacidade de regular as trocas de homeostase, tornando a replicação do tecido menos eficiente. Reações de oxidação química e enzimática, com formação de radicais livres, aceleram ainda mais este processo. Na pele envelhecida observa-se a perda de tecido fibroso, a redução da rede vascular e glandular. A função de barreira que mantém a hidratação celular também fica prejudicada. Dependendo de fatores endógenos como a genética e exógenos como o estilo de vida, com a possível exposição à radiação ultravioleta ou tabagismo, as funções fisiológicas normais da pele podem diminuir em 50% até a meia-idade, (FLOOD *et al.*, 2019; SANCHES SILVEIRA; MYAKI PEDROSO, 2014; SCOTTI; VELASCO, 2003; SILVA *et al.*, 2017).

Adicionando ainda mais complexidade ao exposto acima, as áreas que estudam o sistema dérmico recentemente apontam para a importância do microbioma cutâneo para a saúde humana. A crença que quanto mais “estéril” for a pele melhor para a saúde vem caindo por terra, mas essa extensa e complexa rede de microrganismos que residem na pele humana ainda não é inteiramente entendida, (LEHTIMÄKI *et al.*, 2017). Hoje se sabe que o correto desenvolvimento do sistema imunológico em crianças depende do contato com os microrganismos de onde ela vive, (BLASER; DOMINGUEZ-BELLO, 2016).

Tanto na tenra idade com na fase adulta, a conveniente interação e manutenção do ecossistema microbiano cutâneo ajudam: na produção de compostos anti-inflamatórios, manutenção da função de barreira, composição do arsenal imunológico contra patógenos, correção de danos no tecido e manutenção da homeostase do manto cutâneo saudável, (SANFORD; GALLO, 2013).

Como visto acima, reações de oxidação e formação de radicais livres fazem parte do processo de envelhecimento. Assim, faz sentido pesquisar a função antioxidante de um ativo antes de propô-lo para o uso tópico. A função antioxidante de uma substância é importante para prover ao organismo proteção contra a ação danosa dos radicais livres em excesso, (ALVES *et al.*, 2010).

2.3 Microbiota da pele

A microbiota da pele é formada por diversas bactérias, fungos e vírus que habitam a pele humana. Esse relacionamento de seres microscópicos e humanos gerou um processo de coevolução mútua, logo espera-se que a relação seja benéfica para humanos e sua microbiota que ao longo do tempo assumiu funções importantes da fisiologia do órgão mais externo, (HARRIS-TRYON; GRICE, 2022).

Visto a crescente importância que os microrganismos residentes têm ganhado frente a elucidação do funcionamento fisiológico humano, diversos pesquisadores vêm se dedicando a entender a microbiota humana como um todo, não só a cutânea e não apenas em um determinado período, mas também ao longo do tempo. Incluindo investigações desde o nascimento, o impacto do tipo de parto, normal ou cesariana, além de questões comportamentais, localidade e outras variáveis. Hoje sabe-se que o número de seres microbianos simbióticos supera o número de células humanas em pelo menos 10 vezes, algo da ordem de 100 trilhões de microrganismos, (COSTELLO *et al.*, 2009; DETHLEFSEN *et al.*, 2007).

A modalidade do parto influencia a microbiota. Recém-nascidos por parto normal têm a as espécies *Lactobacillus*, *Prevotella* e *Sneathia* transferidas do colo uterino e canal vaginal para a pele. Em torno de seis semanas após o parto a microbiota desenvolve um perfil com espécies de *Staphylococcus* e *Corynebacterium*. Entretanto, nos indivíduos nascidos por cesariana, as espécies *Staphylococcus*,

Corynebacterium e *Cutibacterium* são predominantes, sem os microrganismos da assinatura vaginal precedente, (CHU *et al.*, 2017).

A fonte de alimentos e condições de oxigenação são determinantes para formação da microbiota de certos pontos da pele. No folículo piloso, região rica em material graxo produzido pela glândula sebácea associada e escassez de oxigênio, leva a bactéria *Cutibacterium acnes*, que é uma anaeróbica facultativa, a dominar a região. A presença de regiões mais mecanicamente protegidas, acaba levando a uma maior umidade local, como nas axilas, virilhas e umbigo, onde é propício o desenvolvimento da espécie *Corynebacterium*. Durante a puberdade os hormônios sexuais levam ao final do desenvolvimento das glândulas sebáceas aumentando a produção de material graxo e por sua vez a presença ainda maior da *Cutibacterium acnes* e *Malassezia spp.* Na idade adulta a microbiota cutânea é relativamente estável nos indivíduos saudáveis assim como acontece com a microbiota intestinal, exceto dos vírus de DNA que possuem alta variação, (CHU *et al.*, 2017; FAITH *et al.*, 2013; OH *et al.*, 2016; PARK *et al.*, 2022; SCHLOISSNIG *et al.*, 2013).

A bactéria mais prevalente na pele humana adulta e sadia é a *Cutibacterium acnes* que representa cerca de 92% da comunidade bacteriana em regiões sebáceas com base nos cálculos executados por Conwill *et al.* (2022) que usou os dados levantados por Oh *et al.* (2014).

Cada indivíduo possui seu próprio conjunto de cepas de *Cutibacterium acnes* (OH *et al.*, 2014), que variam também entre regiões da pele do próprio indivíduo onde uma determinada linhagem pode dominar um poro cutâneo e uma outra cepa diferente em um outro poro. Essa especificidade é gerada pela variabilidade de nutrientes, condições de oxigenação e grau de exposição ao ambiente externo, (CONWILL *et al.*, 2022).

O uso de antissépticos tópicos levam a uma ação de mortalidade local da *C. acnes*, mas essa se mantém durante a recuperação do ecossistema bacteriano. No entanto, quando a intervenção é mais prolongada com uso de agentes bacterianos sistêmicos via oral, nota-se a geração de cepas de *Staphylococcus* resistentes e esse agente antimicrobiano torna-se duradoura na recuperação da microbiota cutânea. O uso de antibióticos sistêmicos gera uma mobilização genética no microbioma como um todo que é considerado uma resposta microbiológica ao estresse, (JO *et al.*, 2021; SANMIGUEL *et al.*, 2018).

A microbiota também compõe a função de barreira da pele. O equilíbrio microbiológico possui espécies que secretam substâncias que visam impedir a colonização por microrganismos invasores ou regulam o ambiente para que nenhuma das espécies da própria microbiota transforme-se em um organismo de risco a saúde humana. Pode-se citar o *Staphylococcus hominis* que produz substâncias antibióticas únicas que possuem excelente ação inibitória contra o *Staphylococcus aureus*. Em outro exemplo, no caso de um aumento da população do *S. aureus* a expressão gênica de regulação populacional, *quorum sensing*, é alterada por substâncias produzidas pelo *Staphylococcus capitis* e *Staphylococcus epidermidis* fazendo com que o *S. aureus* freie sua virulência. Já em um exemplo de interação com as células humanas o *Staphylococcus lugdunensis* produz um ciclo peptídeo que desencadeia a produção de antibióticos pelos queratinócitos humanos, (BITSCHAR *et al.*, 2019; NAKATSUJI *et al.*, 2017; PAHARIK *et al.*, 2017; WILLIAMS *et al.*, 2019).

Sabe-se que mais de 90% de toda a microbiota aeróbia residente na pele é formada por *Staphylococcus epidermidis* que tem inúmeras funções, entre elas estão: ações anti-inflamatórias mutualísticas, reforço da função de barreira e inibição do crescimento de algumas cepas de *Staphylococcus aureus* que são patogênicos,

(BAVIERA *et al.*, 2014). A proliferação do *Staphylococcus aureus* e a menor pluralidade da microbiota cutânea está associada em mais de 90% dos casos de pacientes com dermatite atópica, e em indivíduos que não apresentam essa patologia o microrganismo foi encontrado em menos de 5% dos indivíduos, (GRICE; SEGRE, 2011; PRESCOTT *et al.*, 2017). A infecção por *S. aureus* pode causar abscessos cutâneos, popularmente chamadas de furúnculos, ou até doenças mais sistêmicas como choque séptico e endocardite infecciosa, a taxa de mortalidade é maior que 20% em casos de infecção invasiva, (MISTRETTA *et al.*, 2019; TONG *et al.*, 2015).

2.4 Microrganismos de estudo

Com o objetivo de levantar informações para suportar os ensaios microbiológicos do item 4.2.8, verificou-se as principais atualizações sobre os microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Cutibacterium acnes*.

2.4.1 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* pode ser considerado um dos mais eficientes patógenos conhecidos. Capaz de apresentar infecções cutâneas que não chamam muita atenção até milhões de infecções de alta gravidade por ser altamente difundido em todo o mundo. Visto seu alto espectro de severidade o levantamento do número de infecções no globo é uma tarefa bem desafiadora, (CHEUNG *et al.*, 2021; RASIGADE *et al.*, 2014).

Um levantamento importante sobre coinfeções com o COVID-19, realizado por meio de revisão sistemática com metanálise, analisou 33345 estudos onde 171 deles reportavam coinfeção bacteriana com o vírus, o que representa 171262 pacientes. Na maioria dos casos não houve processo de identificação do agente de coinfeção, mas nos casos que isso foi solicitado o agente com maior prevalência de coinfeção

e infecção secundária era o *Staphylococcus aureus* com 25 e 14% respectivamente, (LANGFORD *et al.*, 2022).

A mortalidade por infecção pelo *S. aureus* estimada por meta-regressão é de 10,4% em 7 dias, 13,3% em 15 dias, 18,1% em 1 mês, 27,0% em 3 meses e 30,2% em 1 ano, com base em 536.791 pacientes. Observou-se um aumento de 10% na resistência à metilina, (BAI *et al.*, 2022).

Visto a severidade dos dados, vários autores e organizações governamentais publicam guias para o tratamento do que é conhecido como *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), onde os fármacos mais recomendados são: vancomicina por meio intravenoso, linezolida, teicoplanina, algumas associações de daptomicina com fosfomicina, ceftarolina ou antiestafilocócico β -lactâmico, (BROWN *et al.*, 2021; CHENG *et al.*, 2021; MOLINA *et al.*, 2022; PUJOL *et al.*, 2021; TABAH *et al.*, 2020; TABAH; LAUPLAND, 2022; TONG *et al.*, 2020).

Um levantamento na literatura da concentração inibitória mínima (MIC) do ácido gentísico frente ao *Staphylococcus aureus* pode ser observada na Tabela 2.4-1.

Tabela 2.4-1 Concentração inibitória mínima (MIC) do ácido gentísico frente o *Staphylococcus aureus*.

Autor	Condição testada	Cepa e Resultado da MIC			
		PCM		ATCC	
		2267	25923	29213	6538
(VANDAL <i>et al.</i> , 2015)	1 mg/mL			S	
(PINHEIRO <i>et al.</i> , 2003)	100 μ g/L		S		
(KALINOWSKA <i>et al.</i> , 2021)	mg/mL	5			
(FELDEKOVÁ <i>et al.</i> , 2022)	mM				5 ⁽¹⁾

Onde: S = Sem efeito antimicrobiano, números representam a MIC na unidade testada. (1) Redação e metodologia não estão claras. Dados obtidos de cada referência. Organização em formato de tabela feita pelo autor.

A ampicilina é um antimicrobiano usado como controle, logo, verificou-se a literatura disponível deste fármaco quando aplicado contra a cepa específica deste trabalho, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, obteve-se as seguintes concentrações

mínimas inibitórias: 4 µg/mL (DA SILVA *et al.*, 2018), 0,325 µg/mL (BIKELS-GOSHEN *et al.*, 2010), 9 µmol/L (PANG *et al.*, 2019) e 1ug/mL (NURAL *et al.*, 2021).

2.4.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli é uma bactéria gram-negativa que tem por característica respiratória ser anaeróbia facultativa, sendo mais presente no trato gastrointestinal de humanos e animais. No entanto, tem comportamentos que variam entre benéfico e inofensivo a altamente patogênico, (AKBAR; ANAL, 2011; ARBAB *et al.*, 2022; FRIEDMAN *et al.*, 2002).

Assim como o *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* também apresentou processo de coinfeção junto ao COVID-19, não sendo o principal microrganismo associado a esse tipo de patologia, entretanto nota-se que a resistência a agentes antibióticos da *E. coli* aumentou significativamente nos casos de coinfeção ao COVID-19. A prevalência da *E. coli* resistente a antibióticos foi estudada por meio de revisão sistemática com meta análise, onde chama atenção o nível de resistência dos seguintes fármacos: associação de amoxilina com clavulanato 85,5%, ampicilina 87,5%, cefuroxima 65,5%, ceftriaxona 73%, levofloxacina 75% e ciprofloxacina 71%, (SULAYYIM *et al.*, 2022). As prevalências de *E. coli* resistente a antibióticos imediatamente antes do COVID-19 eram: ceftriaxona 59%, levofloxacina 43% e ciprofloxacina 46%, (AHMED *et al.*, 2019; AZIMI *et al.*, 2019).

Levantamento na literatura da concentração inibitória mínima (MIC) do ácido gentísico frente a *Escherichia coli* pode ser observada na Tabela 2.4-2.

Tabela 2.4-2 Concentração inibitória mínima (MIC) do ácido gentísico frente o *Escherichia coli*

Autor	Condição testada	Cepa e Resultado da MIC		
		PCM	ATCC	
		2857	25922	8739
(VANDAL <i>et al.</i> , 2015)	1 mg/mL		S	
(PINHEIRO <i>et al.</i> , 2003)	100 µg/L		S	
(KALINOWSKA <i>et al.</i> , 2021)	mg/mL	3		
(FELDEKOVÁ <i>et al.</i> , 2022)	mM			5 ⁽¹⁾

Onde: S = Sem efeito antimicrobiano, números representam a MIC na unidade testada. (1) = Redação e metodologia não estão claras. Dados obtidos de cada referência. Organização em formato de tabela feita pelo autor.

A ampicilina é um antimicrobiano usado como controle. Logo verificou-se a literatura disponível deste fármaco quando aplicado contra a cepa específica deste trabalho, *Escherichia coli* ATCC 10536, obteve-se as seguintes concentrações mínimas inibitórias: 1 µg/mL (AL-ZOREKY, 2009), 0,5 µg/mL (NURAL *et al.*, 2021) e < 1 µg/mL (GECGEL *et al.*, 2020).

2.4.3 *Candida albicans*

A família *Saccharomycetaceae* possui o gênero *Candida* que é responsável pela maioria das infecções fúngicas patológicas em humanos. Algumas espécies são amplamente discutidas como a *Candida glabrata* que comumente apresenta resistência a antimicrobianos, a *Candida auris* que tornou-se rapidamente uma ameaça à saúde pública global e a *Candida albicans* que é a mais prevalente. Outras espécies vêm obtendo crescente atenção do sistema mundial de saúde e construção de conhecimento como a *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*, (LAMOTH *et al.*, 2018; LOPES; LIONAKIS, 2022; PAPPAS *et al.*, 2018).

A *Candida albicans* é comumente encontrada no corpo humano e geralmente associada a regiões de mucosa como boca, ouvidos, pênis, vagina, canal nasal e pulmões estando em estado de simbiose, no entanto algo que traga desequilíbrio para microbiota pode ser um gatilho para tornar-se uma séria infecção fúngica, (ANSALDO *et al.*, 2021; WANG; HOOPER, 2019).

A prevalência de candidíase invasiva é de aproximadamente 29 casos por 100 mil habitantes, (RICOTTA *et al.*, 2021), mas paradoxalmente os indivíduos mais colonizados pela *Candida albicans* são justamente os mais resistentes a uma infecção invasiva, (SHAO *et al.*, 2022).

A concentração inibitória mínima (MIC) obtida na literatura pode ser verificada por meio da Tabela 2.4-3.

Tabela 2.4-3 Concentração inibitória mínima (MIC) do ácido gentísico frente a *Candida albicans*.

Autor	Condição testada	Cepa e Resultado da MIC	
		PCM	ATCC
		2566-FY	10231
(VANDAL <i>et al.</i> , 2015)	mg/mL		1
(KALINOWSKA <i>et al.</i> , 2021)	mg/mL	5	

Onde: números representam a MIC na unidade testada. Dados obtidos de cada referência. Organização em formato de tabela feita pelo autor.

2.4.4 *Cutibacterium acnes*

A recém reclassificada como *Cutibacterium acnes*, (SCHOLZ; KILIAN, 2016), a bactéria anaeróbica facultativa antes chamada de *Propionibacterium acnes*, representa cerca de 92% da microbiota da pele de regiões sebáceas, como apresentado no item 2.3.

A saúde da microrregião está relacionada ao seu equilíbrio. Casos de Dermatite Atópica investigados mostram um decaimento na população e diversidade da *C. acnes* e aumento do *S. aureus*, (FRANCUZIK *et al.*, 2018; WILLIAMS; GALLO, 2017). A Psoríase, que no Reino Unido afeta de 1,3 a 2,5% da população, (CORDINGLEY *et al.*, 2022), também apresenta disbiose cutânea com a redução do *Cutibacterium* aumento do *Staphylococcus* e uma certa manutenção do *Corynebacterium*, o que leva a uma mudança de proporção entre os gêneros, (QUAN *et al.*, 2020).

A Acnes Vulgares, que é a patologia cutânea que afeta entre 60 e 95% da população adolescente global, (CAVALLO *et al.*, 2022). Apresenta atualmente uma mudança no seu entendimento, ainda não amplamente acolhido. A patologia até então é entendida como tendo como uma das principais causas uma alteração hormonal, onde a 5-alpha redutase converte testosterona em di-hidrotestosterona, aumentando a secreção graxa, com isso, acréscimo repentino na proliferação da *Cutibacterium acnes* e o acionamento da cascata inflamatória de forma crônica, (DRÉNO *et al.*, 2020; LEE *et al.*, 2019; MAHMOOD; SHIPMAN, 2017; PASCHOAL; ISMAEL, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2015a, 2015b; SUTARIA *et al.*, 2023). No entanto, autores vem apontando uma mudança significativa no entendimento, onde a diversidade de subespécies de *Cutibacterium acnes* como: *C. acne ssp. elongatum*, *C. acnes ssp. acnes*, *C. acnes ssp. defendens* e outros subtipos produzem quantidades significativas de espécies reativas e oxidativas na pele acneica o que acionaria a cascata inflamatória. Já na pele sadia a microbiota local não produz agentes oxidantes, assim não gerando inflamação, (CORVEC *et al.*, 2019; KIM *et al.*, 2022; LEE *et al.*, 2019; MCLAUGHLIN *et al.*, 2019; MIAS *et al.*, 2023; ROZAS *et al.*, 2021).

A concentração mínima inibitória da ampicilina em relação a *Cutibacterium acnes* para cepas selvagens estaria entre 0,06 e 0,25 µg/mL, (ZHANG *et al.*, 2019), no entanto os autores não deixam exatamente claro a forma de cálculo.

Os dados da atividade antimicrobiana do ácido gentísico não foram encontrados na literatura, podendo ser inédito.

2.5 Liberação de ativos de formulações semissólidas

Os corticoides foram considerados revolucionários no tratamento de doenças cutâneas inflamatórias no pós-segunda guerra mundial em meados da década de 1950, (BARRY; WOODFORD, 1974). O sucesso dos corticoides trouxe muitas

empresas a colocarem suas formulações no mercado. A ideia de que formulações semissólidas poderiam desempenhar papéis diferentes ao liberar o mesmo ativo veio à mente de alguns pesquisadores, o que gerou o interesse de compará-las. Os métodos eram baseados em experimentos clínicos, mas pesquisas na área metodológica também foi alvo de interesse e avanço, (BARRY; WOODFORD, 1974, 1975; BURDICK *et al.*, 1973; CHRISTIE; MOORE-ROBINSON, 1970; COLDMAN *et al.*, 1971; DUMAS; SCHOLTZ, 1972; FALCONI, 1972; MCKENZIE, 1962).

Uns dos primeiros pesquisadores a tentarem um aparato não utilizando testes clínicos e sem a utilização de pele humana como barreira foram Barry e Eini (1976), que verificaram a difusão de corticoides em formulações usando um surfactante não iônico na emulsão e medindo sua permeabilidade em membrana de acetato de celulose.

Tantos outros autores chamaram a atenção para a diferença de desempenho das formulações tópicas que usavam do mesmo princípio ativo e concentração. Até que o médico dermatologista Richard B Stoughton, que foi editor e presidente do *Journal of Investigative Dermatology*, com carreira civil e militar na área, em 1987 publicou um contundente artigo, ainda usando o método clínico de constrição, questionando a equivalência de glicocorticoides disponíveis no mercado, onde encontrou-se significativa variação entre fabricantes que, em teoria, não deveria existir, (STOUGHTON, 1987).

O impacto do artigo foi suficiente para que o FDA passasse a estudar o assunto e finalmente iniciasse um processo de regulamentação, (FDA, 1995). A equivalência entre formas semissólidas requer o entendimento da taxa em que o princípio ativo deixa o veículo ficando disponível para permear a primeira barreira cutânea, ou seja, o estrato córneo. Visto a enorme demanda de estudos de liberação, tornou-se inviável

continuar fazendo testes clínicos para essa finalidade, gerando assim interesse ao desenvolvimento de metodologias e validações para métodos *in vitro*. Ficou-se assim conhecido no setor como: *in vitro release test* (IVRT), (SHAH *et al.*, 2022).

O primeiro guia publicado pela agência reguladora americana no assunto foi em 1995 com o enfoque de bioequivalência considerando testes *in vivo*, (FDA, 1995). Já em 1997 foi elaborado um guia que é considerado um marco no setor. Trata de questões como: *scale up* de formas semissólidas não estéreis, alterações no processo pós-aprovação e a obrigatoriedade de comparações usando testes de liberação *in vitro*, no intuito de evitar a variabilidade da equivalência farmacêutica devido ao processo de transporte do fármaco do veículo até seu alvo, (FDA, 1997).

Atualmente os principais guias e regulamentações envolvendo o setor são:

FDA-2022-D-1859, versão preliminar que está em consulta pública na data da redação deste trabalho, (FDA, 2022b);

Seminário promovido pelo FDA em relação a boas práticas em desenvolvimento de produtos tópicos, (FDA, 2022a);

Método publicado pela Farmacopeia Americana, (USP, 2014);

Seminário detalhando questões metodológicas e interpretativas, (FDA, 2017);

Guia da União Europeia de qualidade e equivalência de produtos tópicos, (EMA, 2018);

Guia da *Organisation for Economic Cooperation and Development* (OECD) para testes *in vitro* e *in vivo*, (OECD, 2004).

2.5.1 Células de liberação

O desenvolvimento dos aparatos para realização dos ensaios *in vitro*, por si só, é algo que demonstra a criatividade humana na busca por mimetizar em laboratório algo que acontece na natureza, sendo a célula criada por Tomaz J. Franz, (FRANZ,

1975), que na época era colaborador da divisão de consumo da Procter & Gamble, tornou-se padrão para os ensaios e é a mais utilizada pelos autores e órgãos reguladores como referência, (FDA, 2022a; OECD, 2004; USP, 2014).

A forma como a célula de Franz é montada, na vertical, fez com que a nomeassem como *Vertical Diffusion Cell* (VDC), entretanto existem outras configurações como Célula de Imersão (USP, 2014), *Enhancer Cell* (CORBO, 1995), *in-line cell* (ILC) (CÓRDOBA-DÍAZ *et al.*, 2000; THAKKER; CHERN, 2003; UPADHYAY *et al.*, 2019), sendo que essa última vem ganhando popularidade.

2.5.2 Modelos matemáticos para mecanismo de liberação

O transporte de um fármaco por uma membrana pode ser modelado pela primeira lei de Fick, (FICK, 1855), modelo de difusão, onde o fluxo de material (J) é proporcional a taxa de variação de sua concentração no espaço (dC/dx) multiplicada por uma constante que é conhecida como coeficiente de difusão (D), gerando-se a equação (1), onde o sinal negativo de D representa que o compartimento doador está perdendo massa. A segunda lei de Fick, determina a variação temporal de concentração (dC/dt) em função das derivadas parciais em relação as três dimensões espaciais (x, y, z), equação (2), (OLEJNIK *et al.*, 2012; THAKKER; KLEIN, 2020).

$$J = -D \frac{dC}{dx} \quad (1)$$

$$\frac{dC}{dt} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right) \quad (2)$$

Aplicando-se as equações (1) e (2), para a difusão entre dois compartimentos sendo o primeiro o doador e o segundo o receptor, separados por uma membrana, chega-se a equação (3) onde o processo de integração matemática, sob algumas condições de contorno, produz duas soluções: a primeira no caso da substância estar

em dispersão no meio doador segue-se a equação (4), já no caso da substância estar solubilizada no meio doador aplica-se a equação (5), (HIGUCHI, 1961; HIGUCHI; HIGUCHI, 1960). Ficando conhecido por modelo de Takeru Higuchi, ou apenas Higuchi. Modelagem matemática ainda amplamente aceita hoje em dia, (FDA, 2022a; USP, 2009, 2014).

$$\frac{M_t}{M_0} = K(t)^{0,5} \quad (3)$$

$$Q = 2C_0 \left(\frac{Dt}{\pi} \right)^{0,5} \quad (4)$$

$$Q = (2C_0C_sDt)^{0,5} \quad (5)$$

No entanto existem outros modelos que não são diretamente derivados das equações (1) e (2). Entre eles estão: o de ordem zero com a equação (6), o de primeira ordem com a equação (7), e o de Korsmeyer-Peppas com a equação (8), (ALONSO *et al.*, 2020; ELHASSAN, 2022; MALLANDRICH *et al.*, 2017).

$$\frac{M_t}{M_0} = K \cdot t \quad (6)$$

$$\frac{M_t}{M_0} = 1 - e^{k \cdot t} \quad (7)$$

$$\frac{M_t}{M_0} = K \cdot t^n \quad (8)$$

Sendo M_t e M_0 a massa da substância no tempo t e a massa no início do experimento, respectivamente. K sendo a constante de específica para cada modelo matemático. A razão dentre M_t e M_0 é conhecida como liberação percentual quando multiplicada por 100.

2.6 O ácido gentísico

2.6.1 Funções de interesse farmacêutico

O ácido gentísico é amplamente encontrado fazendo parte do próprio sistema de defesa das plantas, (ABEDI *et al.*, 2020; FERNÁNDEZ *et al.*, 2010). O processo de investigação científica já identificou algumas funções relevantes. A substância vem demonstrando um vasto espectro de atividade biológica, incluindo propriedades antioxidante, adstringente, anti-inflamatória e antirreumática, (BORGES; CASTLE, 2015; HMDB, 2022; PELEG; NOBLE, 1995). O grupo de pesquisa de Kabra *et al.* (2014) apresentou interessante atividade antiparkinsoniana e recentemente Sun *et al.* (2019) evidenciou uma descoberta que o ácido gentísico pode impedir a transição da hipertrofia para a insuficiência cardíaca prevenindo a disfunções cardíacas. Kim *et al.* (2020) concluem que o ácido gentísico tem efeito sinérgico com o processo de cicatrização da pele e sugerem que esse seja o composto principal para essa finalidade.

O ácido gentísico vem mostrando-se como um ativo antitumoral e anticancerígeno (SHARMA, S. *et al.*, 2004) ou com um papel na prevenção ao câncer (SHARMA, Sonia *et al.*, 2004). Já Altinoz *et al.* (2018), em um artigo contundente, relataram atividade antitumoral e sugerem que o ácido gentísico tenha estudos ampliados como um fármaco anticancerígeno. Como o ácido gentísico é um catabólico da aspirina alguns autores demonstraram a influência desta substância em alguns tipos de câncer, por exemplo, tumores gliais (EGAN *et al.*, 2016; SIVAK-SEARS *et al.*, 2004) e câncer de mama (LU *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2012), mas em indivíduos que tem geneticamente alelos da variante CYP2C9, é dificultada a conversão da aspirina em ácido gentísico, assim os portadores não usufruem do

benefício (BIGLER *et al.*, 2001), o que é mais uma evidência da importância do ácido gentísico na função antitumoral ou anticancerígena.

Algumas plantas como *Solanum nigrum* Linn, *Hibiscus rosa sinensis*, *Amaranthus spp.* e *Leonurus sibiricus* são elencadas, pelo conhecimento popular, por suas atividades antitumorais, visto isso, alguns autores, investigando-as, confirmaram o conhecimento tradicional e atribuíram à presença do ácido gentísico nestas plantas a função associada ao emprego popular, (HUANG *et al.*, 2010; SARKER; OBA, 2020; SHARMA, Sonia *et al.*, 2004; SITAREK *et al.*, 2017).

2.6.2 Nomenclatura e números de registro

O ácido gentísico possui alguns sinônimos como 2,5-di-hidrobenzoico e 2,5-DHBA, *2,5-Dihydroxybenzoate*, *2,5-dihydroxybenzoic acid*, *2,5-Dihydroxybenzoic acid*, *5-hydroxysalicylic acid*, *Gentisate*, *Gentisic acid*, *Hydroquinone carboxylic acid*. A nomenclatura em língua inglesa mais usada é *Gentisic Acid*, sendo o nome IUPAC: *2,5-Dihydroxybenzoic acid*, (HMDB, 2022). A substância possui registro em diversas instituições como visto na Tabela 2.6-1.

Tabela 2.6-1 Referências do ácido gentísico em diversas instituições.

Instituição	Sigla	Número de Registro ou Referência
<i>Chemical Abstract Service</i>	CAS	490-79-9
<i>Chemical Entities of Biological Interest</i>	ChEBI	17189
<i>International Chemical Identifier</i>	InChI	1S/C7H6O4/c8-4-1-2-6(9)5(3-4)7(10)11/h1-3,8-9H,(H,10,11)
<i>International Chemical Identifier</i>	InChIKey	WXTMDXOMEHJXQO-UHFFFAOYSA-N
<i>Simplified Molecular-Input Line-Entry System</i>	SMILES	OC(=O)c1cc(O)ccc1O
<i>World Health Organization - International Nonproprietary Names</i>	INN	756
<i>National Library of Medicine</i>	PubChem® CID	3469
<i>Human Metabolome Database</i>	HMDB	HMDB00152
<i>European Chemicals Agency</i>	ECHA	207-718-5
<i>Japan Chemical Substance Dictionary</i>	Nikkaji	J6.046 ^a
<i>Food and Drug Administration</i>	UNII	VP36V95O3T

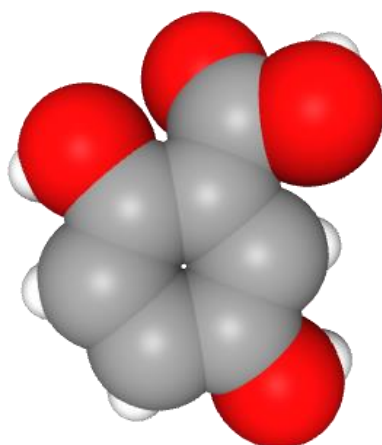
Nota: organização em tabela pelo autor, dados consultados em cada instituição.

2.6.3 Fórmula e características físico-químicas

O ácido gentísico apresenta-se como pó cristalino com coloração variando entre branco a amarelado e possui a característica de formar cristais monoclinicos em forma de prisma quando precipitado de uma solução aquosa.

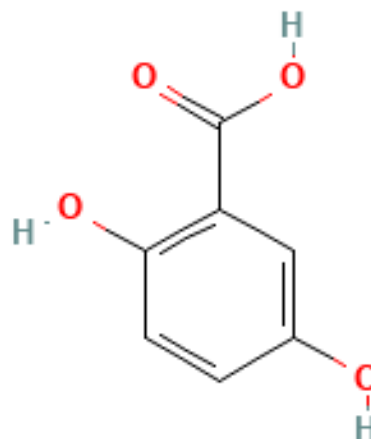
A fórmula molecular é C₇H₆O₄, sendo a massa molar média de 154,121 g/mol, ponto de fusão é estimado em 199,5 °C, sua solubilidade em água é estimada em 12,3 g/L, (HMDB, 2022). Pode-se ter uma ideia da fórmula espacial pela Figura 2.6-1 e Figura 2.6-2.

Figura 2.6-1 Fórmula espacial do ácido gentísico.



Fonte: (PUBCHEM, 2023)

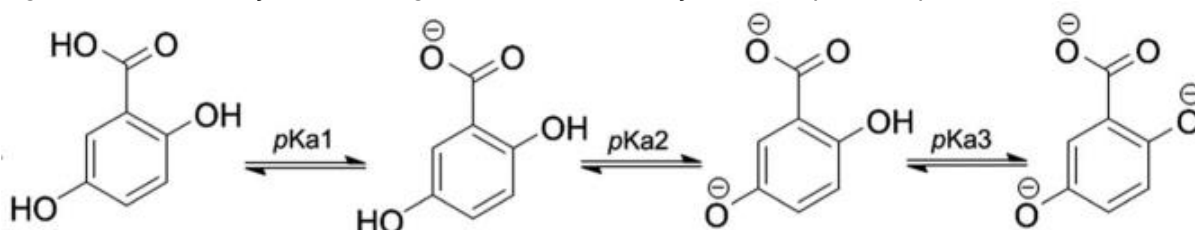
Figura 2.6-2 Fórmula estrutural do ácido gentísico.



Fonte: (PUBCHEM, 2023)

A substância caracteriza-se por ser um ácido poliprótico, possuindo diferentes graus de dissociação segundo Figura 2.6-3.

Figura 2.6-3 Dissociação do ácido gentísico com a indicação dos respectivos pKa.

Fonte: (PÉREZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2014)

Dados do logarítmico da constante de dissociação ácida (pKa) foram coletados na literatura e organizados na forma da Tabela 2.1-1.

Tabela 2.6-2 Logaritmo da constante de dissociação ácida segundo cada autor.

pKa1	pKa2	pKa3	Método	Referência
2,97	10,50	-	Potenciométrico	(TSIN-JAO <i>et al.</i> , 1962)
3,0	10,3	13,9	Titulação espectrofotométrica	(STALLINGS; SCHULMAN, 1975)
2,77	10,01	10,80	Cromatográfico	(ERDEMGIL <i>et al.</i> , 2007)
2,98	10,29	-	Potenciométrico	(ERDEMGIL <i>et al.</i> , 2007)

Nota: A origem dos dados segundo cada referência. Organização em tabela pelo autor. (–) dado não disponível.

7 REFERÊNCIAS

- ABEDI, F.; RAZAVI, B. M.; HOSSEINZADEH, H. A review on gentisic acid as a plant derived phenolic acid and metabolite of aspirin: Comprehensive pharmacology, toxicology, and some pharmaceutical aspects. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 34, n. 4, p. 729–741, 2020.
- ADHIKARI, M.; JOSHI, N. K.; JOSHI, H. C.; MEHATA, M. S.; MISHRA, H.; PANT, S. Revisiting the photochemistry 2,5-dihydroxy benzoic acid (gentisic acid): Solvent and pH effect. **Journal of Physical Organic Chemistry**, [s. l.], v. 34, n. 4, 2021.
- AHMED, I.; RABBI, Md. B.; SULTANA, S. Antibiotic resistance in Bangladesh: A systematic review. **International Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 80, p. 54–61, 2019.
- AKBAR, A.; ANAL, A. K. Food safety concerns and food-borne pathogens, Salmonella, Escherichia coli and Campylobacter. **FUUAST journal of Biology**, [s. l.], v. 1, n. 1 June, p. 5–17, 2011. Disponível em: <https://fuuastjb.org/index.php/fuuastjb/article/view/340>. Acesso em: 3 abr. 2023.
- AKHLAGHI, S. P.; DA SILVEIRA BALESTRIN, L. B.; BRINATTI, C.; PIROLT, F.; LOH, W.; GLATTER, O. Preparation and Characterization of Stabilizer-Free Phytantriol-Based Water-in-Oil Internally Liquid Crystalline Emulsions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 109, n. 6, p. 2024–2032, 2020.
- ALDEHLAWI, H.; USMAN, S.; LALLI, A.; AHMAD, F.; WILLIAMS, G.; TEH, M. T.; WASEEM, A. Serum lipids, retinoic acid and phenol red differentially regulate expression of keratins K1, K10 and K2 in cultured keratinocytes. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, 2020.
- ALONSO, C.; COLLINI, I.; CARRER, V.; BARBA, C.; MARTÍ, M.; CODERCH, L. Permeation kinetics of active drugs through lanolin-based artificial membranes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 192, p. 111024, 2020.
- ALTINOZ, M. A.; ELMACI, I.; CENGİZ, S.; EMEKLI-ALTURFAN, E.; OZPINAR, A. From epidemiology to treatment: Aspirin's prevention of brain and breast-cancer and cardioprotection may associate with its metabolite gentisic acid. **Chemico-Biological Interactions**, [s. l.], v. 291, p. 29–39, 2018.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, [s. l.], v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.

AL-ZOREKY, N. S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 134, n. 3, p. 244–248, 2009.

ANSALDO, E.; FARLEY, T. K.; BELKAID, Y. Control of Immunity by the Microbiota. **Annual Review of Immunology**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 449–479, 2021.

ANVISA. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. 1. ed. Brasília: ANVISA, 2004. 2004.

ANVISA. Ministério da Saúde. RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**.: Brasil, 2017, 2017.

ARBAB, S.; ULLAH, H.; WANG, W.; ZHANG, J. Antimicrobial drug resistance against *Escherichia coli* and its harmful effect on animal health. **Veterinary Medicine and Science**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 1780–1786, 2022.

ARENS, E. A.; ZHANG, H. The skin's role in human thermoregulation and comfort. *Em*: PAN, N.; GIBSON, P. (org.). **Thermal and moisture transport in fibrous materials**. Cambridge, England: Woodhead Publishing, 2006. p. 560–577.

AZIMI, T.; MAHAM, S.; FALLAH, F.; AZIMI, L.; GHOLINEJAD, Z. Evaluating the antimicrobial resistance patterns among major bacterial pathogens isolated from clinical specimens taken from patients in Mofid Children's Hospital, Tehran, Iran: 2013–2018. **Infection and Drug Resistance**, [s. l.], v. 12, p. 2089–2102, 2019.

BAI, A. D.; LO, C. K. L.; KOMOROWSKI, A. S.; SURESH, M.; GUO, K.; GARG, A.; TANDON, P.; SENECA, J.; DEL CORPO, O.; STEFANOVA, I.; FOGARTY, C.; BUTLER-LAPORTE, G.; MCDONALD, E. G.; CHENG, M. P.; MORRIS, A. M.; LOEB, M.; LEE, T. C. Staphylococcus aureus bacteraemia mortality: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 28, n. 8, p. 1076–1084, 2022.

BAJPAI, A.; LI, R.; CHEN, W. The cellular mechanobiology of aging: from biology to mechanics. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [s. l.], v. 1491, n. 1, p. 3–24, 2021.

BARRY, B. W.; EL EINI, D. I. Influence of non-ionic surfactants on permeation of hydrocortisone, dexamethasone, testosterone and progesterone across cellulose acetate membrane. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 219–227, 1976.

BARRY, B. W.; WOODFORD, R. Comparative bio-availability and activity of proprietary topical corticosteroid preparations: vasoconstrictor assays on thirty-one ointments. **British Journal of Dermatology**, [s. l.], v. 93, n. 5, p. 563–571, 1975.

BARRY, B. W.; WOODFORD, R. Comparative bio-availability of proprietary topical corticosteroid preparations; vasoconstrictor assays on thirty creams and gels. **British Journal of Dermatology**, [s. l.], v. 91, n. 3, p. 323–338, 1974.

BAVIERA, G.; LEONI, M. C.; CAPRA, L.; CIPRIANI, F.; LONGO, G.; MAIELLO, N.; RICCI, G.; GALLI, E. Microbiota in Healthy Skin and in Atopic Eczema. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2014, p. 1–6, 2014.

BEILIN, A. K.; RIPPA, A. L.; SHAROBARO, V. I.; GURSKAYA, N. G.; VOROTELYAK, E. A. The reconstructed human epidermis *in vitro* - a model for basic and applied research of human skin. **Vestnik dermatologii i venerologii**, [s. l.], v. 96, n. 2, 2020.

BEISL, S.; BINDER, M.; VARMUZA, K.; MILTNER, A.; FRIEDL, A. UV-Vis spectroscopy and chemometrics for the monitoring of organosolv pretreatments. **ChemEngineering**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 45, 2018.

BERGER, V. W.; ZHOU, Y. Kolmogorov–Smirnov Test: Overview. *Em*: BALAKRISHNAN, N.; COLTON, T.; EVERITT, B.; PIEGORSCH, W.; RUGGERI, F.; TEUGELS, J. L. (org.). **Wiley StatsRef: Statistics Reference Online**. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Ltd, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118445112.stat06558>. Acesso em: 27 mar. 2022.

BIGLER, J.; WHITTON, J.; LAMPE, J. W.; FOSDICK, L.; BOSTICK, R. M.; POTTER, J. D. CYP2C9 and UGT1A6 genotypes modulate the protective effect of aspirin on colon adenoma risk. **Cancer research**, [s. l.], v. 61, n. 9, p. 3566–9, 2001.

BIKELS-GOSHEN, T.; LANDAU, E.; SAGUY, S.; SHAPIRA, R. Staphylococcal strains adapted to epigallocatechin gallate (EGCG) show reduced susceptibility to vancomycin, oxacillin and ampicillin, increased heat tolerance, and altered cell morphology. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 138, n. 1–2, p. 26–31, 2010.

BITSCHAR, K.; SAUER, B.; FOCKEN, J.; DEHMER, H.; MOOS, S.; KONNERTH, M.; SCHILLING, N. A.; GROND, S.; KALBACHER, H.; KURSCHUS, F. C.; GÖTZ, F.; KRISMER, B.; PESCHEL, A.; SCHITTEK, B. Lugdunin amplifies innate immune responses in the skin in synergy with host- and microbiota-derived factors. **Nature Communications**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 2730, 2019.

- BLANCA, M. J.; ALARCÓN, R.; ARNAU, J.; BONO, R.; BENDAYAN, R. Non-normal data: Is ANOVA still a valid option?. **Psicothema**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 552–557, 2017.
- BLASER, M. J.; DOMINGUEZ-BELLO, M. G. The human microbiome before birth. **Cell Host & Microbe**, [s. l.], v. 20, n. 5, p. 558–560, 2016.
- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH· free radical method. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 30, n. 6, p. 609–615, 1997.
- BORGES, R. S.; CASTLE, S. L. The antioxidant properties of salicylate derivatives: A possible new mechanism of anti-inflammatory activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 25, n. 21, p. 4808–4811, 2015.
- BOUWSTRA, J. A.; GOORIS, G. S.; DUBBELAAR, F. E.; WEERHEIM, A. M.; PONEC, M. pH, cholesterol sulfate, and fatty acids affect the stratum corneum lipid organization. **The journal of investigative dermatology. Symposium proceedings**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 69–74, 1998.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- BREUSCH, T. S.; PAGAN, A. R. A simple test for heteroscedasticity and random coefficient variation. **Econometrica**, [s. l.], v. 47, n. 5, p. 1287–1294, 1979.
Disponível em: <https://ideas.repec.org/a/ecm/emetrp/v47y1979i5p1287-94.html>.
Acesso em: 30 jul. 2022.
- BROWN, N. M.; GOODMAN, A. L.; HORNER, C.; JENKINS, A.; BROWN, E. M. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): updated guidelines from the UK. **JAC-Antimicrobial Resistance**, [s. l.], v. 3, n. 1, 2021.
- BURDICK, K. H.; HALEBLIAN, J. K.; POULSEN, B. J.; COBNER, S. E. Corticosteroid ointments: comparison by two human bioassays. **Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 233–42, 1973.
- BYRNE, F. P.; JIN, S.; PAGGIOLA, G.; PETCHEY, T. H. M.; CLARK, J. H.; FARMER, T. J.; HUNT, A. J.; ROBERT MCELROY, C.; SHERWOOD, J. Tools and techniques for solvent selection: green solvent selection guides. **Sustainable Chemical Processes**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 7, 2016.
- CARMO, M. A. V. do; FIDELIS, M.; PRESSETE, C. G.; MARQUES, M. J.; CASTRO-GAMERO, A. M.; MYODA, T.; GRANATO, D.; AZEVEDO, L. Hydroalcoholic *Myrciaria dubia* (camu-camu) seed extracts prevent chromosome damage and act as

antioxidant and cytotoxic agents. **Food Research International**, [s. l.], v. 125, p. 108551, 2019.

CASSON, R. J.; FARMER, L. D. Understanding and checking the assumptions of linear regression: a primer for medical researchers. **Clinical & Experimental Ophthalmology**, [s. l.], v. 42, n. 6, p. 590–596, 2014.

CAVALLO, I.; SIVORI, F.; TRUGLIO, M.; DE MAIO, F.; LUCANTONI, F.; CARDINALI, G.; PONTONE, M.; BERNARDI, T.; SANGUINETTI, M.; CAPITANIO, B.; CRISTAUDO, A.; ASCENZIONI, F.; MORRONE, A.; PIMPINELLI, F.; DI DOMENICO, E. G. Skin dysbiosis and *Cutibacterium acnes* biofilm in inflammatory acne lesions of adolescents. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 21104, 2022.

CHENG, M. P.; LAWANDI, A.; BUTLER-LAPORTE, G.; DE L'ÉTOILE-MOREL, S.; PAQUETTE, K.; LEE, T. C. Adjunctive daptomycin in the treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: A randomized, controlled trial. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 72, n. 9, p. e196–e203, 2021.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 547–569, 2021.

CHOI, S.-J.; SONG, M.-G.; SUNG, W.-T.; LEE, D.-Y.; LEE, J.-H.; LEE, E.-S.; YANG, J.-M. Comparison of transepidermal water loss, capacitance and pH values in the skin between intrinsic and extrinsic atopic dermatitis patients. **Journal of Korean medical science**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 93–6, 2003.

CHRISTIE, G. A.; MOORE-ROBINSON, M. Vehicle assessment — Methodology and results. **British Journal of Dermatology**, [s. l.], v. 82, n. s6, p. 93–93, 1970.

CHU, D. M.; MA, J.; PRINCE, A. L.; ANTONY, K. M.; SEFEROVIC, M. D.; AAGAARD, K. M. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 314–326, 2017.

COLDMAN, M. F.; LOCKERBIE, L.; LAWS, E. A. The evaluation of several topical corticosteroid preparations in the blanching test. **British Journal of Dermatology**, [s. l.], v. 85, n. 4, p. 381–387, 1971.

CONWILL, A.; KUAN, A. C.; DAMERLA, R.; PORET, A. J.; BAKER, J. S.; TRIPP, A. D.; ALM, E. J.; LIEBERMAN, T. D. Anatomy promotes neutral coexistence of strains in the human skin microbiome. **Cell Host & Microbe**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 171–182, 2022.

CORBO, M. Techniques for conducting *in vitro* release studies on semisolid formulations. **Dissolution Technologies**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 3–6, 1995.

CORDINGLEY, L.; NELSON, P. A.; DAVIES, L.; ASHCROFT, D.; BUNDY, C.; CHEW-GRAHAM, C.; CHISHOLM, A.; ELVIDGE, J.; HAMILTON, M.; HILTON, R.; KANE, K.; KEYWORTH, C.; LITTLEWOOD, A.; LOVELL, K.; LUNT, M.; MCATEER, H.; NTAIS, D.; PARISI, R.; PEARCE, C.; RUTTER, M.; SYMMONS, D.; YOUNG, H.; GRIFFITHS, C. E. Identifying and managing psoriasis-associated comorbidities: the IMPACT research programme. **Programme Grants for Applied Research**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 1–240, 2022.

CÓRDOBA-DÍAZ, M.; NOVA, M.; ELORZA, B.; CÓRDOBA-DÍAZ, D.; CHANTRES, J. R.; CÓRDOBA-BORREGO, M. Validation protocol of an automated in-line flow-through diffusion equipment for in vitro permeation studies. **Journal of controlled release**, [s. l.], v. 69, n. 3, p. 357–367, 2000.

CORRÊA, M. Antonio. **Cosmetologia / ciência e técnica**. São Paulo: Livraria e Editora Medfarma, 2012.

CORVEC, S.; DAGNELIE, M.-A.; KHAMMARI, A.; DRÉNO, B. Taxonomy and phylogeny of Cutibacterium (formerly Propionibacterium) acnes in inflammatory skin diseases. **Annales de Dermatologie et de Vénéréologie**, [s. l.], v. 146, n. 1, p. 26–30, 2019.

COSTELLO, E. K.; LAUBER, C. L.; HAMADY, M.; FIERER, N.; GORDON, J. I.; KNIGHT, R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. **Science**, [s. l.], v. 326, n. 5960, p. 1694–1697, 2009.

DA SILVA, J. B.; DE BESSA, M. E.; SANTOS MAYORGA, O. A.; ANDRADE, V. T.; DA COSTA, Y. F. G.; DE FREITAS MENDES, R.; PIRES FERREIRA, A. L.; SCIO, E.; ALVES, M. S. A promising antibiotic, synergistic and antibiofilm effects of *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae) on *Staphylococcus aureus*. **Microbial Pathogenesis**, [s. l.], v. 123, p. 385–392, 2018.

DANBY, S. G.; CORK, M. J. pH in atopic Dermatitis. **Current problems in dermatology**, [s. l.], v. 54, p. 95–107, 2018.

DETHLEFSEN, L.; MCFALL-NGAI, M.; RELMAN, D. A. An ecological and evolutionary perspective on human–microbe mutualism and disease. **Nature**, [s. l.], v. 449, n. 7164, p. 811–818, 2007.

DOLAN, J. W. How much retention time variation is normal?. **LCGC North America**, [s. l.], v. 32, n. 8, p. 546–551, 2014. Disponível em: <https://www.chromatographyonline.com/view/how-much-retention-time-variation-normal-0>. Acesso em: 22 mar. 2023.

DONG, M. W. How to be more successful with HPLC analysis: Practical aspects in HPLC operation. Em: AHUJA, Satinder; DONG, Michael W. (org.). **Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC**. San Diego, CA: Academic Press, 2005.

(Separation Science and Technology). v. 6, p. 255–271. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149639505800534>. Acesso em: 30 jul. 2022.

DORADO, J. G.; FRAILE, P. A. Anatomía y fisiología de la piel. **Pediatría Integral**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 156.e1-156.e13, 2021.

DRÉNO, B.; DAGNELIE, M. A.; KHAMMARI, A.; CORVEC, S. The skin microbiome: A new actor in inflammatory acne. **American Journal of Clinical Dermatology**, [s. l.], v. 21, n. S1, p. 18–24, 2020.

DRISKELL, R. R.; LICHTENBERGER, B. M.; HOSTE, E.; KRETZSCHMAR, K.; SIMONS, B. D.; CHARALAMBOUS, M.; FERRON, S. R.; HERAULT, Y.; PAVLOVIC, G.; FERGUSON-SMITH, A. C.; WATT, F. M. Distinct fibroblast lineages determine dermal architecture in skin development and repair. **Nature**, [s. l.], v. 504, n. 7479, p. 277–281, 2013.

DUMAS, K. J.; SCHOLTZ, J. R. The psoriasis bio-assay for topical corticosteroid activity. **Acta dermato-venereologica**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 43–8, 1972.

EGAN, K. M.; NABORS, L. B.; THOMPSON, Z. J.; ROZMESKI, C. M.; ANIC, G. A.; OLSON, J. J.; LAROCCA, R. V.; CHOWDHARY, S. A.; FORSYTH, P. A.; THOMPSON, R. C. Analgesic use and the risk of primary adult brain tumor. **European Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 31, n. 9, p. 917–925, 2016.

ELHASSAN, G. O. Preparation and characterization of itraconazole transdermal patches containing single-phase emulgel. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, [s. l.], v. 14, p. 195–200, 2022.

EMA. Quality and equivalence of topical products - Scientific guideline. **European Medicines Agency**: The Netherlands, 14 Dec. 2018. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/quality-equivalence-topical-products-scientific-guideline#current-version-section>. Acesso em: 12 abr. 2023.

ERDEMGIL, F.; SANLI, S.; SANLI, N.; OZKAN, G.; BARBOSA, J.; GUITERAS, J.; BELTRAN, J. Determination of pKa values of some hydroxylated benzoic acids in methanol–water binary mixtures by LC methodology and potentiometry. **Talanta**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 489–496, 2007.

ERNST HEUSS. Die Reaktion des Schweisses beim gesudem Menschen. **Monatsh Parkt Dermat**, [s. l.], v. 14, p. 343–349, 1892.

FAITH, J. J.; GURUGE, J. L.; CHARBONNEAU, M.; SUBRAMANIAN, S.; SEEDORF, H.; GOODMAN, A. L.; CLEMENTE, J. C.; KNIGHT, R.; HEATH, A. C.; LEIBEL, R. L.; ROSENBAUM, M.; GORDON, J. I. The long-term stability of the human gut microbiota. **Science**, [s. l.], v. 341, n. 6141, 2013.

FALCONI, G. Paper-Patch test for evaluating vasoconstrictive activity of corticosteroids. **Archives of Dermatology**, [s. l.], v. 105, n. 6, p. 856, 1972.

FDA. **Best practices for topical generic product development and ANDA submission**. Silver Spring, MD: United State Food and Drug Administration, 2022a. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/best-practices-topical-generic-product-development-and-anda-submission-08112022>. Acesso em: 12 abr. 2023.

FDA. **In vitro bioequivalence data for a topical product: Bioequivalence review perspective**. Silver Spring, MD: United State Food and Drug Administration, 2017. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/110389/download>. Acesso em: 12 abr. 2023.

FDA. *In vitro* release test studies for topical drug products submitted in ANDAs. **United States Food and Drug Administration**: USA, 2022b. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/162476/download>. Acesso em: 12 abr. 2023.

FDA. Nonsterile semisolid dosage forms (SUPAC-SS) chemistry. **United States Food and Drug Administration**: USA, 1997. Disponível em: <https://www.regulations.gov/docket/FDA-1997-D-0380/document>. Acesso em: 12 abr. 2023.

FDA. Topical dermatologic corticosteroids: *In vivo* bioequivalence. **United States Food and Drug Administration**: USA, 1995. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/70931/download>. Acesso em: 12 abr. 2023.

FELDEKOVÁ, E.; KOSOVÁ, M.; BERČÍKOVÁ, M.; DRAGOUN, M.; KLOJDOVÁ, I.; HRÁDKOVÁ, I.; ŠMIDRKAL, J. Antimicrobial properties of phenolic acid alkyl esters. **Czech Journal of Food Sciences**, [s. l.], v. 40, n. 6, p. 438–444, 2022.

FERNÁNDEZ, I. S.; CUEVAS, P.; ANGULO, J.; LÓPEZ-NAVAJAS, P.; CANALES-MAYORDOMO, Á.; GONZÁLEZ-CORROCHANO, R.; LOZANO, R. M.; VALVERDE, S.; JIMÉNEZ-BARBERO, J.; ROMERO, A.; GIMÉNEZ-GALLEGO, G. Gentisic acid, a compound associated with plant defense and a metabolite of aspirin, heads a new class of in vivo fibroblast growth factor inhibitors. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 285, n. 15, p. 11714–11729, 2010.

FICK, A. Ueber diffusion. **Annalen der Physik und Chemie**, [s. l.], v. 170, n. 1, p. 59–86, 1855.

FLOOD, K. S.; HOUSTON, N. A.; SAVAGE, K. T.; KIMBALL, A. B. Genetic basis for skin youthfulness. **Clinics in Dermatology**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 312–319, 2019.

FLORINDA, M. B. Barrera epidérmica en dermatitis atópica. **Rev Asoc Col Dermatol**, [s. l.], v. 16, n. 4, 2008.

FOX, J.; WEISBERG, S.; PRICE, B.; ADLER, D.; BATES, D.; BAUD-BOVY, G.; BOLKER, B.; ELLISON, S.; FIRTH, D.; FRIENDLY, M.; GORJANC, G.; GRAVES, S.; HEIBERGER, R.; LABOISSIERE, R.; MAECHLER, M.; MONETTE, G.; MURDOCH, D.; NILSSON, H.; OGLE, D.; RIPLEY, B.; VENABLES, W.; WALKER, S.; WINSEMIUS, D.; ZEILEIS, A.; R-CORE. Package 'car': Companion to applied Regression. **CRAN Repository**, [s. l.], 2021.

FRANCUZIK, W.; FRANKE, K.; SCHUMANN, R.; HEINE, G.; WORM, M. Propionibacterium acnes Abundance Correlates Inversely with Staphylococcus aureus: Data from atopic dermatitis skin Microbiome. **Acta Dermato Venereologica**, [s. l.], v. 98, n. 5, p. 490–495, 2018.

FRANZ, T. J. Percutaneous absorption. On the relevance of *in vitro* data. **Journal of Investigative Dermatology**, [s. l.], v. 64, n. 3, p. 190–195, 1975.

FRIBERG, S. E. Micelles microemulsions liquid crystals and the structure of stratum corneum lipids. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, [s. l.], v. 41, n. 3, p. 155–172, 1990.

FRIEDMAN, D.; STOUT, J. E.; MCGARRY, S. A.; TRIVETTE, S. L.; BRIGGS, J. P.; LAMM, W.; CLARK, C.; MACFARQUHAR, J.; WALTON, A. L.; RELLER, L. B.; SEXTON, D. J. Health care – Associated bloodstream infections in adults: A reason to change the accepted definition of community-acquired infections. **Annals of Internal Medicine**, [s. l.], v. 137, n. 10, p. 791–797, 2002.

GARZÓN, A.; BRAVO, I.; CARRIÓN-JIMÉNEZ, M. R.; RUBIO-MORAGA, Á.; ALBALADEJO, J. Spectroscopic study on binding of gentisic acid to bovine serum albumin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 150, p. 26–33, 2015.

GECGEL, C.; SIMSEK, U. B.; TURABIK, M.; OZDEMIR, S. Synthesis of titanium doped iron based metal–organic frameworks and investigation of their biological activities. **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 749–757, 2020.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H.; BAGHDADI, A.; TAYEBI-MEIGOONI, A. Alpha-Mangostin-Rich extracts from Mangosteen pericarp: Optimization of green extraction protocol and evaluation of biological activity. **Molecules**, [s. l.], v. 23, n. 8, p. 1852, 2018a.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E.; BUKHORI, M. F. M.; RAHMAT, M. H.; RAHMAT, A. Assessment and comparison of phytochemical constituents and biological activities of bitter bean (*Parkia speciosa* Hassk.) collected from different locations in Malaysia. **Chemistry Central Journal**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 12, 2018b.

GOLDFELD, S. M.; QUANDT, R. E. Some tests for homoscedasticity. **Journal of the American Statistical Association**, [s. l.], v. 60, n. 310, p. 539–547, 1965.

GREENHOUSE, S. W.; GEISSER, S. On methods in the analysis of profile data. **Psychometrika**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 95–112, 1959.

GRICE, E. A.; SEGRE, J. A. The skin microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 244–253, 2011.

HACHEM, J.-P.; CRUMRINE, D.; FLUHR, J.; BROWN, B. E.; FEINGOLD, K. R.; ELIAS, P. M. pH directly regulates epidermal permeability barrier homeostasis, and stratum corneum integrity/cohesion. **The Journal of investigative dermatology**, [s. l.], v. 121, n. 2, p. 345–53, 2003.

HACHEM, J.-P.; MAN, M.-Q.; CRUMRINE, D.; UCHIDA, Y.; BROWN, B. E.; ROGIERS, V.; ROSEEUW, D.; FEINGOLD, K. R.; ELIAS, P. M. Sustained serine proteases activity by prolonged increase in pH leads to degradation of lipid processing enzymes and profound alterations of barrier function and stratum corneum integrity. **The Journal of investigative dermatology**, [s. l.], v. 125, n. 3, p. 510–20, 2005.

HARRISON, M. J.; MCCABE, B. P. M. A test for heteroscedasticity based on ordinary least squares residuals. **Journal of the American Statistical Association**, [s. l.], v. 74, n. 366, p. 494, 1979.

HARRIS-TRYON, T. A.; GRICE, E. A. Microbiota and maintenance of skin barrier function. **Science**, [s. l.], v. 376, n. 6596, p. 940–945, 2022. Disponível em: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.abo0693>. Acesso em: 1 ago. 2022.

HAVERKAMP, N.; BEAUDUCCEL, A. Violation of the sphericity assumption and its effect on type-I error rates in repeated measures ANOVA and multi-level linear models (MLM). **Frontiers in psychology**, [s. l.], v. 8, p. 1841, 2017.

HENDERSON, R. K.; JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, C.; CONSTABLE, D. J. C.; ALSTON, S. R.; INGLIS, G. G. A.; FISHER, G.; SHERWOOD, J.; BINKS, S. P.; CURZONS, A. D. Expanding GSK's solvent selection guide – embedding sustainability into solvent selection starting at medicinal chemistry. **Green Chemistry**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 854, 2011.

HIGUCHI, T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 50, n. 10, p. 874–875, 1961.

HIGUCHI, W. I.; HIGUCHI, T. Theoretical analysis of diffusional movement through heterogeneous barriers. **Journal of the American Pharmaceutical Association (Scientific ed.)**, [s. l.], v. 49, n. 9, p. 598–606, 1960.

HMDB. **Showing metabocard for Gentisic acid (HMDB0000152)**. [S. l.: s. n.], 2022. Disponível em: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0000152>. Acesso em: 8 mar. 2023.

HONARI, G.; MAIBACH, H. Skin structure and function. *Em*: MAIBACH, Howard; HONARI, Golaria (org.). **Applied Dermatotoxicology**. Boston: Academic Press, 2014. p. 1–10. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124201309000013>. Acesso em: 30 jul. 2022.

HUANG, H.-C.; SYU, K.-Y.; LIN, J.-K. Chemical Composition of Solanum nigrum Linn Extract and Induction of Autophagy by Leaf Water Extract and Its Major Flavonoids in AU565 Breast Cancer Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 58, n. 15, p. 8699–8708, 2010.

HUYNH, H.; FELDT, L. S. Estimation of the box correction for degrees of freedom from sample data in randomized block and split-plot designs. **Journal of Educational Statistics**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 69–82, 1976.

IBGE. **Projeções da população**. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9109-projecao-da-populacao.html>. Acesso em: 18 jul. 2021.

ICH. Analytical procedure development Q14. **ICH Harmonised Guideline**, [s. l.], 2022. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q14-analytical-procedure-development-step-2b_en.pdf. Acesso em: 26 jul. 2022.

ICH. Validation of analytical procedures: Text and methodology. **International Conference on Harmonization**, [s. l.], 1995. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf. Acesso em: 26 jul. 2022.

ISAAC, V. L. B.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO, H. R. N.; CORRÊA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada**, [s. l.], v. 29, n. 1, 2008.

ISHIDA-YAMAMOTO, A.; SENSU, T.; TAKAHASHI, H.; AKIYAMA, K.; NOMURA, K.; IIZUKA, H. Decreased deiminated keratin K1 in psoriatic hyperproliferative epidermis. **Journal of Investigative Dermatology**, [s. l.], v. 114, n. 4, 2000.

JASP TEAM. **JASP**. Versão 0.17.1. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: <https://jasp-stats.org/>. Acesso em: 1 abr. 2023.

JO, J.-H.; HARKINS, C. P.; SCHWARDT, N. H.; PORTILLO, J. A.; ZIMMERMAN, M. D.; CARTER, C. L.; HOSSEN, M. A.; PEER, C. J.; POLLEY, E. C.; DARTOIS, V.; FIGG, W. D.; MOUTSOPOULOS, N. M.; SEGRE, J. A.; KONG, H. H. Alterations of human skin microbiome and expansion of antimicrobial resistance after systemic antibiotics. **Science Translational Medicine**, [s. l.], v. 13, n. 625, 2021.

KABRA, M. P.; BHANDARI, S. S.; SHARMA, A.; GUPTA, R. B. Evaluation of anti-parkinson's activity of gentisic acid in different animal models. **Journal of Acute Disease**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 141–144, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221618914600317>. Acesso em: 30 jul. 2022.

KALINOWSKA, M.; GOŁĘBIEWSKA, E.; ŚWIDERSKI, G.; MĘCZYŃSKA-WIELGOSZ, S.; LEWANDOWSKA, H.; PIETRYCZUK, A.; CUDOWSKI, A.; ASTEL, A.; ŚWISŁOCKA, R.; SAMSONOWICZ, M.; ZŁOWODZKA, A. B.; PRIEBE, W.; LEWANDOWSKI, W. Plant-Derived and dietary hydroxybenzoic acids — A comprehensive study of structural, anti-/pro-oxidant, lipophilic, antimicrobial, and cytotoxic activity in MDA-MB-231 and MCF-7 cell lines. **Nutrients**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 3107, 2021.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 48, n. 4, p. 412–422, 2011.

KHAN, A.; RAYNER, G. D. Robustness to non-normality of common tests for the many-sample location problem. **Journal of Applied Mathematics and Decision Sciences**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 187–206, 2003.

KIM, M.; KIM, J.; SHIN, Y.-K.; KIM, K.-Y. Gentisic acid stimulates keratinocyte proliferation through ERK1/2 phosphorylation. **International Journal of Medical Sciences**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 626–631, 2020.

KIM, S.; SONG, H.; JIN, J. S.; LEE, W. J.; KIM, J. Genomic and phenotypic characterization of *Cutibacterium acnes* bacteriophages Isolated from acne patients. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 11, n. 8, 2022.

LAMOTH, F.; LOCKHART, S. R.; BERKOW, E. L.; CALANDRA, T. Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 73, n. suppl_1, p. i4–i13, 2018.

LANGFORD, B. J.; SO, M.; LEUNG, V.; RAYBARDHAN, S.; LO, J.; KAN, T.; LEUNG, F.; WESTWOOD, D.; DANEMAN, N.; MACFADDEN, D. R.; SOUCY, J.-P. R. Predictors and microbiology of respiratory and bloodstream bacterial infection in patients with COVID-19: living rapid review update and meta-regression. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 491–501, 2022.

LEBEAU, J.; FURMAN, C.; BERNIER, J.-L.; DURIEZ, P.; TEISSIER, E.; COTELLE, N. Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylated flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 29, n. 9, p. 900–912, 2000.

LEE, Y. B.; BYUN, E. J.; KIM, H. S. Potential role of the microbiome in acne: A comprehensive review. **Journal of clinical medicine**, [s. l.], v. 8, n. 7, 2019.

LEHTIMÄKI, J.; KARKMAN, A.; LAATIKAINEN, T.; PAALANEN, L.; VON HERTZEN, L.; HAAHTELA, T.; HANSKI, I.; RUOKOLAINEN, L. Patterns in the skin microbiota differ in children and teenagers between rural and urban environments. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 45651, 2017.

LOPES, J. P.; LIONAKIS, M. S. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. **Virulence**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 89–121, 2022.

LU, L.; SHI, L.; ZENG, J.; WEN, Z. Aspirin as a potential modality for the chemoprevention of breast cancer: A dose-response meta-analysis of cohort studies from 857,831 participants. **Oncotarget**, [s. l.], v. 8, n. 25, p. 40389–40401, 2017.

MAHMOOD, N. F.; SHIPMAN, A. R. The age-old problem of acne. **International Journal of Women's Dermatology**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 71–76, 2017.

MALLANDRICH, M.; FERNÁNDEZ-CAMPOS, F.; CLARES, B.; HALBAUT, L.; ALONSO, C.; CODERCH, L.; GARDUÑO-RAMÍREZ, M. L.; ANDRADE, B.; DEL POZO, A.; LANE, M. E.; CALPENA, A. C. Developing transdermal applications of ketorolac tromethamine entrapped in stimuli sensitive block copolymer hydrogels. **Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 34, n. 8, p. 1728–1740, 2017.

MARCHIONINI, A. Säuremantel der haut und bakterienabwehr - IV. Mitteilung. pathologische lücken des säuremantels. **Klinische Wochenschrift**, [s. l.], v. 17, p. 1831–1835, 1938.

MARCHIONINI, A.; HAUSKNECHT, W. Säuremantel der haut und bakterienabwehr. **Klinische Wochenschrift**, [s. l.], v. 17, n. 19, p. 663–666, 1938. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF01778645>. Acesso em: 1 ago. 2022.

MARCHIONINI, A.; SCHMIDT, R. Säuremantel der haut und bakterienabwehr - III. Mitteilung. Über die regionäre verschiedenheit des bakterienwachstums auf der hautoberfläche. **Klinische Wochenschrift**, [s. l.], v. 17, n. 22, 1938.

MARCHIONINI, A.; SCHMIDT, R. Säuremantel der haut und bakterienabwehr - V. Mitteilung der bakteriengehalt in pathologischen lücken des säuremantels. **Klinische Wochenschrift**, [s. l.], v. 18, n. 13, 1939.

MARCHIONINI, A.; SCHMIDT, R.; KIEFER, J. Säuremantel der haut und Bakterienabwehr - II. Mitteilung. Über die regionäre Verschiedenheit der

Bakterienabwehr und Desinfektionskraft der Hautoberfläche. **Klinische Wochenschrift**, [s. l.], v. 17, n. 21, 1938.

MARIEB, E.; WILHELM, P.; MALLATT, J. **Anatomia humana**. 7. ed. São Paulo: Pearson Education, 2014.

MARRAKCHI, S.; MAIBACH, H. I. Biophysical parameters of skin: map of human face, regional, and age-related differences. **Contact Dermatitis**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 28–34, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1600-0536.2007.01138.x>. Acesso em: 30 jul. 2022.

MASSEY, F. J. The Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit. **Journal of the American Statistical Association**, [s. l.], v. 46, n. 253, p. 68, 1951.

MATOLTSY, A. G. Desmosomes, filaments, and keratohyaline granules: their role in the stabilization and keratinization of the epidermis. **Journal of Investigative Dermatology**, [s. l.], v. 65, n. 1, 1975.

MAUCHLY, J. W. Significance test for sphericity of a dormal n-variate distribution. **The Annals of Mathematical Statistics**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 204–209, 1940.

MCKENZIE, A. W. Method for comparing percutaneous absorption of steroids. **Archives of Dermatology**, [s. l.], v. 86, n. 5, p. 608, 1962.

MCKNIGHT, G.; SHAH, J.; HARGEST, R. **Physiology of the skin**. Amsterdam: Elsevier Ltd, 2022.

MCLAUGHLIN, J.; WATTERSON, S.; LAYTON, A. M.; BJOURSON, A. J.; BARNARD, E.; MCDOWELL, A. Propionibacterium acnes and Acne Vulgaris: New Insights from the Integration of Population Genetic, Multi-Omic, Biochemical and Host-Microbe Studies. **Microorganisms**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 128, 2019.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C. dos; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 127–130, 2001.

MIAO, H.; DONG, R.; ZHANG, S.; YANG, L.; LIU, Y.; WANG, T. Inherited ichthyosis and fungal infection: an update on pathogenesis and treatment strategies. **JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 341–350, 2021.

MIAS, C.; MENGEAUD, V.; BESSOU-TOUYA, S.; DUPLAN, H. Recent advances in understanding inflammatory acne: Deciphering the relationship between *Cutibacterium acnes* and Th17 inflammatory pathway. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, [s. l.], v. 37, n. S2, p. 3–11, 2023.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 130, n. 4, p. 1036–1043, 2012.

MISTRETTA, N.; BROSSAUD, M.; TELLES, F.; SANCHEZ, V.; TALAGA, P.; ROKBI, B. Glycosylation of *Staphylococcus aureus* cell wall teichoic acid is influenced by environmental conditions. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 3212, 2019.

MOLINA, J.; MONTERO-MATEOS, E.; PRAENA-SEGOVIA, J.; LEÓN-JIMÉNEZ, E.; NATERA, C.; LÓPEZ-CORTÉS, L. E.; VALIENTE, L.; ROSSO-FERNÁNDEZ, C. M.; HERRERO, M.; ALLER-GARCÍA, A. I.; CANO, Á.; GUTIÉRREZ-GUTIÉRREZ, B.; MÁRQUEZ-GÓMEZ, I.; ÁLVAREZ-MARÍN, R.; INFANTE, C.; ROCA, C.; VALIENTE-MÉNDEZ, A.; PACHÓN, J.; REGUERA, J. M.; CORZO-DELGADO, J. E.; TORRE-CISNEROS, J.; RODRÍGUEZ-BAÑO, J.; CISNEROS, J. M.; SOLANO, B.; GONZÁLEZ-GALÁN, V.; HINOJOSA, E.; LÓPEZ-BERNAL, F.; SUÑER, M.; NOVAL, J. Á.; GIRÁLDEZ, Á.; NAVARRO, A.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, M. J.; BORREGO, Y.; GIL, P.; LEPE, J. A.; MORALES, I.; RETAMAR, P.; DE CUETO, M.; CASTÓN, J. J.; VIDAL, E. Seven-versus 14-day course of antibiotics for the treatment of bloodstream infections by Enterobacterales: a randomized, controlled trial. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 550–557, 2022.

NAKATSUJI, T.; CHEN, T. H.; NARALA, S.; CHUN, K. A.; TWO, A. M.; YUN, T.; SHAFIQ, F.; KOTOL, P. F.; BOUSLIMANI, A.; MELNIK, A. V.; LATIF, H.; KIM, J.-N.; LOCKHART, A.; ARTIS, K.; DAVID, G.; TAYLOR, P.; STREIB, J.; DORRESTEIN, P. C.; GRIER, A.; GILL, S. R.; ZENGLER, K.; HATA, T. R.; LEUNG, D. Y. M.; GALLO, R. L. Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis. **Science Translational Medicine**, [s. l.], v. 9, n. 378, 2017.

NURAL, Y.; OZDEMIR, S.; YALCIN, M. S.; DEMIR, B.; ATABEY, H.; ECE, A.; SEFEROGLU, Z. Synthesis, biological evaluation, molecular docking, and acid dissociation constant of new bis-1,2,3-triazole compounds. **ChemistrySelect**, [s. l.], v. 6, n. 28, p. 6994–7001, 2021. Disponível em: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/slct.202101148>. Acesso em: 3 abr. 2023.

OECD. Guidelines for the testing of chemicals. **Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD)**: France, n. 428, 13 Apr. 2004.

OH, J.; BYRD, A. L.; DEMING, C.; CONLAN, S.; KONG, H. H.; SEGRE, J. A. Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. **Nature**, [s. l.], v. 514, n. 7520, p. 59–64, 2014.

OH, J.; BYRD, A. L.; PARK, M.; KONG, H. H.; SEGRE, J. A. Temporal stability of the human skin microbiome. **Cell**, [s. l.], v. 165, n. 4, p. 854–866, 2016.

OLEJNIK, A.; GOSCIANSKA, J.; NOWAK, I. Active compounds release from semisolid dosage forms. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 101, n. 11, p. 4032–4045, 2012.

OSBORNE, D. W.; FRIBERG, S. E. Role of stratum corneum lipids as moisture retaining agent. **Journal of Dispersion Science and Technology**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 173–179, 1987.

PAHARIK, A. E.; PARLET, C. P.; CHUNG, N.; TODD, D. A.; RODRIGUEZ, E. I.; VAN DYKE, M. J.; CECHE, N. B.; HORSWILL, A. R. Coagulase-Negative Staphylococcal Strain Prevents Staphylococcus aureus Colonization and Skin Infection by Blocking Quorum Sensing. **Cell Host & Microbe**, [s. l.], v. 22, n. 6, p. 746-756.e5, 2017.

PANG, D.; LIAO, S.; WANG, W.; MU, L.; LI, E.; SHEN, W.; LIU, F.; ZOU, Y. Destruction of the cell membrane and inhibition of cell phosphatidic acid biosynthesis in *Staphylococcus aureus*: an explanation for the antibacterial mechanism of morusin. **Food & Function**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 6438–6446, 2019.

PAPPAS, P. G.; LIONAKIS, M. S.; ARENDRUP, M. C.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; KULLBERG, B. J. Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 18026, 2018.

PARK, J.; SCHWARDT, N. H.; JO, J.-H.; ZHANG, Z.; PILLAI, V.; PHANG, S.; BRADY, S. M.; PORTILLO, J. A.; MACGIBENY, M. A.; LIANG, H.; PENSLER, M.; SOLDIN, S. J.; YANOVSKI, J. A.; SEGRE, J. A.; KONG, H. H. Shifts in the skin bacterial and fungal communities of healthy children transitioning through puberty. **Journal of Investigative Dermatology**, [s. l.], v. 142, n. 1, p. 212–219, 2022.

PASCHOAL, F. M.; ISMAEL, A. P. P. B. The effect of light in the treatment of acne vulgaris. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 117–123, 2010. Disponível em: <http://www.surgicalcosmetic.org.br/details/67/en-US/the-effect-of-light-in-the-treatment-of-acne-vulgaris>. Acesso em: 4 abr. 2023.

PELEG, H.; NOBLE, A. C. Perceptual properties of benzoic acid derivatives. **Chemical Senses**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 393–400, 1995.

PÉREZ-GONZÁLEZ, A.; GALANO, A.; ALVAREZ-IDABOY, J. R. Dihydroxybenzoic acids as free radical scavengers: mechanisms, kinetics, and trends in activity. **New Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 38, n. 6, p. 2639, 2014.

PRAT, D.; HAYLER, J.; WELLS, A. A survey of solvent selection guides. **Green Chemistry**, [s. l.], v. 16, n. 10, p. 4546–4551, 2014.

PRAT, D.; WELLS, A.; HAYLER, J.; SNEDDON, H.; MCELROY, C. R.; ABOU-SHEHADA, S.; DUNN, P. J. Correction: CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents. **Green Chemistry**, [s. l.], v. 17, n. 10, p. 4848–4848, 2015.

PRESCOTT, S. L.; LARCOMBE, D.-L.; LOGAN, A. C.; WEST, C.; BURKS, W.; CARABALLO, L.; LEVIN, M.; ETTEN, E. Van; HORWITZ, P.; KOZYRSKYJ, A.; CAMPBELL, D. E. The skin microbiome: impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. **World Allergy Organization Journal**, [s. l.], v. 10, p. 29, 2017.

PUBCHEM. **PUBCHEM**. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_5-Dihydroxybenzoic-acid. Acesso em: 8 mar. 2023.

PUJOL, M.; MIRÓ, J.-M.; SHAW, E.; AGUADO, J.-M.; SAN-JUAN, R.; PUIG-ASENSIO, M.; PIGRAU, C.; CALBO, E.; MONTEJO, M.; RODRIGUEZ-ÁLVAREZ, R.; GARCIA-PAIS, M.-J.; PINTADO, V.; ESCUDERO-SÁNCHEZ, R.; LOPEZ-CONTRERAS, J.; MORATA, L.; MONTERO, M.; ANDRÉS, M.; PASQUAU, J.; ARENAS, M.-M.; PADILLA, B.; MURILLAS, J.; JOVER-SÁENZ, A.; LÓPEZ-CORTES, L.-E.; GARCÍA-PARDO, G.; GASCH, O.; VIDELA, S.; HEREU, P.; TEBÉ, C.; PALLARÈS, N.; SANLLORENTE, M.; DOMÍNGUEZ, M.-Á.; CÀMARA, J.; FERRER, A.; PADULLÉS, A.; CUERVO, G.; CARRATALÀ, J.; SORIANO, A.; ALMELA, M.; GÓMEZ, F.; CHÁVEZ, F.; MIRELIS, B.; PADILLA, E.; DOLORES PÉREZ-RAMÍREZ, M.; ESPASA, M.; MARIA SÁNCHEZ-DÍAZ, A.; CERCENADO, E.; RUIZ DE GOPEGUI, E.; SIVERIO, A.; DE CUETO, M.; GARCÍA-GARROTE, F.; GARCIA, M.; XERCAVINS, M.; NIEVES LARROSA, M. Daptomycin Plus Fosfomycin Versus Daptomycin Alone for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia and Endocarditis: A Randomized Clinical Trial. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 72, n. 9, p. 1517–1525, 2021.

QUAN, C.; CHEN, X.-Y.; LI, X.; XUE, F.; CHEN, L.-H.; LIU, N.; WANG, B.; WANG, L.-Q.; WANG, X.-P.; YANG, H.; ZHENG, J. Psoriatic lesions are characterized by higher bacterial load and imbalance between *Cutibacterium* and *Corynebacterium*. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [s. l.], v. 82, n. 4, p. 955–961, 2020.

R CORE TEAM. **R: A Language and environment for statistical computing**. Versão 4.1. [S. l.: s. n.], 2021. Disponível em: <https://cran.r-project.org>. Acesso em: 4 jan. 2023.

RASIGADE, J.-P.; DUMITRESCU, O.; LINA, G. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections. **Clinical Microbiology and Infection**, [s. l.], v. 20, n. 7, p. 587–588, 2014.

RIBEIRO, B. de M.; ALMEIDA, L. M. C.; COSTA, A.; FRANCESCONI, F.; FOLLADOR, I.; NEVES, J. R.; FOLLADOR, I.; NEVES, J. R. Etiopathogeny of acne vulgaris: a practical review for day-to-day dermatologic practice. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 20–26, 2015a. Disponível em:

<http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/scd1984-8773.2015731682>. Acesso em: 4 abr. 2023.

RIBEIRO, B. de M.; FOLLADOR, I.; COSTA, A.; FRANCESCONI, F.; NEVES, J. R.; ALMEIDA, L. M. C.; LUIZ, M.; ALMEIDA, C. Acne in adult women: a review for the daily clinical practice. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 10–19, 2015b. Disponível em: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/scd1984-8773.2015731680>. Acesso em: 4 abr. 2023.

RICHARDSON, M. Understanding the structure and function of the skin. **Nursing times**, [s. l.], v. 99, n. 31, p. 46–8, 2003.

RICOTTA, E. E.; LAI, Y. L.; BABIKER, A.; STRICH, J. R.; KADRI, S. S.; LIONAKIS, M. S.; PREVOTS, D. R.; ADJEMIAN, J. Invasive candidiasis species distribution and trends, United States, 2009–2017. **The Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 223, n. 7, p. 1295–1302, 2021.

RIPPKE, F.; SCHREINER, V.; SCHWANITZ, H.-J. The acidic milieu of the horny layer: new findings on the physiology and pathophysiology of skin pH. **American journal of clinical dermatology**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 261–72, 2002.

ROZAS, M.; HART DE RUIJTER, A.; FABREGA, M. J.; ZORGANI, A.; GUELL, M.; PAETZOLD, B.; BRILLET, F. From dysbiosis to healthy skin: Major contributions of *Cutibacterium acnes* to skin homeostasis. **Microorganisms**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 628, 2021.

SANCHES SILVEIRA, J. E. P.; MYAKI PEDROSO, D. M. UV light and skin aging. **Reviews on Environmental Health**, [s. l.], v. 29, n. 3, 2014.

SANFORD, J. A.; GALLO, R. L. Functions of the skin microbiota in health and disease. **Seminars in Immunology**, [s. l.], v. 25, n. 5, p. 370–377, 2013.

SANMIGUEL, A. J.; MEISEL, J. S.; HORWINSKI, J.; ZHENG, Q.; BRADLEY, C. W.; GRICE, E. A. Antiseptic Agents Elicit Short-Term, Personalized, and Body Site-Specific Shifts in Resident Skin Bacterial Communities. **Journal of Investigative Dermatology**, [s. l.], v. 138, n. 10, p. 2234–2243, 2018.

SANTOS, S. N.; CASTANHA, R. F.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; SCRAMIN, S.; MELO, I. S. de. Determinação quantitativa da atividade antioxidante de extratos brutos de microrganismos pelo método de captura de radical livre DPPH.

Comunicado Técnico Embrapa Meio Ambiente, [s. l.], v. 1, n. 50, p. 1–5, 2011. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/40220/1/comunicado-50.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2022.

SARKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 321–324, 2007.

SARKER, U.; OBA, S. Phenolic profiles and antioxidant activities in selected drought-tolerant leafy vegetable amaranth. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 18287, 2020.

SBD. **Envelhecimento**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2023. Disponível em: <https://www.sbd.org.br/doencas/envelhecimento/>. Acesso em: 8 mar. 2023.

SBD. **Estrutura da Pele**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2022. Disponível em: <https://www.sbd.org.br/cuidados/conheca-a-pele/>. Acesso em: 7 out. 2022.

SCHADE, H.; MARCHIONINI, A. Der Säuremantel der haut (Nach gaskettenmessungen). **Klinische Wochenschrift**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 12–14, 1928. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF01711684>. Acesso em: 1 ago. 2022.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 18, p. 782–796, 2015.

SCHLOISSNIG, S.; ARUMUGAM, M.; SUNAGAWA, S.; MITREVA, M.; TAP, J.; ZHU, A.; WALLER, A.; MENDE, D. R.; KULTIMA, J. R.; MARTIN, J.; KOTA, K.; SUNYAEV, S. R.; WEINSTOCK, G. M.; BORK, P. Genomic variation landscape of the human gut microbiome. **Nature**, [s. l.], v. 493, n. 7430, p. 45–50, 2013.

SCHMID-WENDTNER, M.-H.; KORTING, H. C. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. **Skin pharmacology and physiology**, [s. l.], v. 19, n. 6, p. 296–302, 2006.

SCHOLZ, C. F. P.; KILIAN, M. The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus *Propionibacterium* to the proposed novel genera *Acidipropionibacterium* gen. nov., *Cutibacterium* gen. nov. and *Pseudopropionibacterium* gen. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [s. l.], v. 66, n. 11, p. 4422–4432, 2016.

SCOTTI, L.; VELASCO, M. V. R. **Envelhecimento Cutâneo à Luz da Cosmetologia**. São Paulo: Tecnopress, 2003.

SEGGER, D.; ASSMUS, U.; BROCK, M.; ERASMY, J.; FINKEL, P.; FITZNER, A.; HEUSS, H.; KORTEMEIER, U.; MUNKE, S.; RHEINLÄNDER, T.; SCHMIDT-LEWERKÜHNE, H.; SCHNEIDER, W.; WESER, G. Multicenter study on

measurement of the natural pH of the skin surface. **International Journal of Cosmetic Science**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 75–75, 2008.

SEIDENARI, S.; GIUSTI, G. Objective assessment of the skin of children affected by atopic dermatitis: a study of pH, capacitance and TEWL in eczematous and clinically uninvolved skin. **Acta dermato-venereologica**, [s. l.], v. 75, n. 6, p. 429–33, 1995.

SHAH, V. P.; ELKINS, J.; LAM, S.-Y.; SKELLY, J. P. Determination of *in vitro* drug release from hydrocortisone creams. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 53–59, 1989.

SHAH, V. P.; SIMONA MIRON, D.; ȘTEFAN RĂDULESCU, F.; CARDOT, J.-M.; MAIBACH, H. I. *In vitro* release test (IVRT): Principles and applications. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 626, p. 122159, 2022.

SHAO, T.-Y.; HASLAM, D. B.; BENNETT, R. J.; WAY, S. S. Friendly fungi: symbiosis with commensal *Candida albicans*. **Trends in Immunology**, [s. l.], v. 43, n. 9, p. 706–717, 2022.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, [s. l.], v. 52, n. 3–4, p. 591–611, 1965.

SHARMA, Sonia; KHAN, N.; SULTANA, S. Modulatory effect of gentisic acid on the augmentation of biochemical events of tumor promotion stage by benzoyl peroxide and ultraviolet radiation in Swiss albino mice. **Toxicology Letters**, [s. l.], v. 153, n. 3, p. 293–302, 2004.

SHARMA, S.; KHAN, N.; SULTANA, S. Study on prevention of two-stage skin carcinogenesis by Hibiscus rosa sinensis extract and the role of its chemical constituent, gentisic acid, in the inhibition of tumour promotion response and oxidative stress in mice. **European Journal of Cancer Prevention**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 53–63, 2004.

SHRESTHA, D. C.; ACHARYA, S.; GURUNG, D. B. A Finite Element Approach to Evaluate Thermoregulation in the Human Body due to the Effects of Sweat Evaporation during Cooking, Cleaning, and Walking. **Mathematical Problems in Engineering**, [s. l.], v. 2021, p. 1–14, 2021.

SILVA, S. A. M. e; MICHNIAK-KOHN, B.; LEONARDI, G. R. An overview about oxidation in clinical practice of skin aging. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s. l.], v. 92, n. 3, p. 367–374, 2017.

SILVEIRA, A. C. da; KASSUIA, Y. S.; DOMAHOVSKI, R. C.; LAZZAROTTO, M. Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível. **Comunicado técnico Embrapa Meio Ambiente**, [s. l.], v. 1, n. 421, 2018.

SITAREK, P.; SKAŁA, E.; TOMA, M.; WIELANEK, M.; SZEMRAJ, J.; SKORSKI, T.; BIAŁAS, A. J.; SAKOWICZ, T.; KOWALCZYK, T.; RADEK, M.; WYSOKIŃSKA, H.; ŚLIWIŃSKI, T. Transformed root extract of *Leonurus sibiricus* induces apoptosis through intrinsic and extrinsic pathways in various grades of human glioma cells. **Pathology & Oncology Research**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 679–687, 2017.

SIVAK-SEARS, N. R.; SCHWARTZBAUM, J. A.; MIIKE, R.; MOGHADASSI, M.; WRENSCH, M. Case-control study of use of nonsteroidal antiinflammatory drugs and glioblastoma multiforme. **American Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 159, n. 12, p. 1131–1139, 2004.

SMACK, D. P.; KORGE, B. P.; JAMES, W. D. Keratin and keratinization. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 85–102, 1994.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962294700125>. Acesso em: 1 set. 2022.

SMIRNOV, N. V. Approximate distribution laws for random variables, constructed from empirical data. **Uspekhi Mat. Nauk**, [s. l.], v. 10, p. 179–2016, 1944.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; DOLAN, J. W. **Introduction to modern liquid chromatography**. 3. ed. Hoboken, N.J.: Wiley, 2010. 2010.

STALLINGS, M. S.; SCHULMAN, S. G. Fluorescence of gentisic acid. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 78, n. 2, p. 483–486, 1975.

STOUGHTON, R. B. Are generic formulations equivalent to trade name topical glucocorticoids?. **Archives of Dermatology**, [s. l.], v. 123, n. 10, p. 1312–1314, 1987.

SULAYYIM, H. J. Al; ISMAIL, R.; HAMID, A. Al; GHAFAR, N. A. Antibiotic resistance during COVID-19: A systematic review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s. l.], v. 19, n. 19, p. 11931, 2022.

SUN, S.; KEE, H. J.; RYU, Y.; CHOI, S. Y.; KIM, G. R.; KIM, H.-S.; KEE, S.-J.; JEONG, M. H. Gentisic acid prevents the transition from pressure overload-induced cardiac hypertrophy to heart failure. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 3018, 2019.

SURBER, C.; HUMBERT, P.; ABELS, C.; MAIBACH, H. The acid mantle: A myth or an essential part of skin health? Em: BASEL, Peter Itin; ROSKILDE, Gregor B. E. Jemec (org.). **Series: Current Problems in Dermatology**. Basel, Switzerland: Karger, 2018. v. 54, p. 1–10.

SUTARIA, A. H.; MASOOD, S.; SCHLESSINGER, J. Acne vulgaris. *Em: Statpearls* [INTERNET]. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459173/>. Acesso em: 2 mar. 2023.

TABAH, A.; BASSETTI, M.; KOLLEF, M. H.; ZAHAR, J.-R.; PAIVA, J.-A.; TIMSIT, J.-F.; ROBERTS, J. A.; SCHOUTEN, J.; GIAMARELLOU, H.; RELLO, J.; DE WAELE, J.; SHORR, A. F.; LEONE, M.; POULAKOU, G.; DEPUYDT, P.; GARNACHO-MONTERO, J. Antimicrobial de-escalation in critically ill patients: a position statement from a task force of the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) and European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Critically Ill Patients Study Group (ESGCIP). **Intensive Care Medicine**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 245–265, 2020.

TABAH, A.; LAUPLAND, K. B. Update on Staphylococcus aureus bacteraemia. **Current Opinion in Critical Care**, [s. l.], v. 28, n. 5, p. 495–504, 2022.

THAKKER, K. D.; CHERN, W. H. Development and validation of *In vitro* Release Tests for Semisolid Dosage Forms — Case study. **Dissolution Technologies**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 10–15, 2003.

THAKKER, K.; KLEIN, R. Drug release: topical products. *Em: RILEY, Christopher M.; ROSANSKE, Thomas W.; REID, George (org.). Specification of drug substances and products*. 2. ed. Cambridge, MA: Elsevier, 2020. p. 505–534.

THE JAMOVİ PROJECT. **Jamovi**. Versão 2.3.24. [S. l.: s. n.], 2022. Disponível em: <https://www.jamovi.org>. Acesso em: 2 abr. 2023.

TONG, S. Y. C.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND, T. L.; FOWLER, V. G. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 603–661, 2015.

TONG, S. Y. C.; LYE, D. C.; YAHAV, D.; SUD, A.; ROBINSON, J. O.; NELSON, J.; ARCHULETA, S.; ROBERTS, M. A.; CASS, A.; PATERSON, D. L.; FOO, H.; PAUL, M.; GUY, S. D.; TRAMONTANA, A. R.; WALLS, G. B.; MCBRIDE, S.; BAK, N.; GHOSH, N.; ROGERS, B. A.; RALPH, A. P.; DAVIES, J.; FERGUSON, P. E.; DOTEL, R.; MCKEW, G. L.; GRAY, T. J.; HOLMES, N. E.; SMITH, S.; WARNER, M. S.; KALIMUDDIN, S.; YOUNG, B. E.; RUNNEGAR, N.; ANDRESEN, D. N.; ANAGNOSTOU, N. A.; JOHNSON, S. A.; CHATFIELD, M. D.; CHENG, A. C.; FOWLER, V. G.; HOWDEN, B. P.; MEAGHER, N.; PRICE, D. J.; VAN HAL, S. J.; O'SULLIVAN, M. V. N.; DAVIS, J. S. Effect of vancomycin or vaptomycin with vs without an Antistaphylococcal β -Lactam on mortality, bacteremia, relapse, or treatment failure in patients with MRSA bacteremia. **JAMA**, [s. l.], v. 323, n. 6, p. 527, 2020.

TSIN-JAO, J.; SOMMER, L.; OKÁČ, A. Chelate der o-dihydroxybenzoesäuren mit eisen(III). **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, [s. l.], v. 27, n. 5, p. 1171–1190, 1962.

UPADHYAY, Y.; SINGH, A. K.; MISHRA, S.; GURULE, S. J.; KHUROO, A. H.; TIWARI, N.; BEDI, S. Comparison of in vitro release rates of diclofenac topical formulations using an in-line cell automated diffusion system. **Dissolution Technologies**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 10–16, 2019.

USP. **1724 - semisolid drug products performance tests**. *Em*: UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. Rockville, MD: The United States Pharmacopeial Convention, 2014. p. 1273–1284.

USP. Topical and transdermal drug products. **Pharmacopeial Forum**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 750–764, 2009.

UYANTO, S. S. Power comparisons of five most commonly used autocorrelation tests. **Pakistan Journal of Statistics and Operation Research**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 119–130, 2020.

VANDAL, J.; ABOU-ZAID, M. M.; FERRONI, G.; LEDUC, L. G. Antimicrobial activity of natural products from the flora of Northern Ontario, Canada. **Pharmaceutical Biology**, [s. l.], v. 53, n. 6, p. 800–806, 2015.

VENUS, M.; WATERMAN, J.; MCNAB, I. **Basic physiology of the skin**. [S. l.: s. n.], 2010.

WANG, Y.; HOOPER, L. V. Immune control of the microbiota prevents obesity. **Science**, [s. l.], v. 365, n. 6451, p. 316–317, 2019.

WAUGH, A.; GRANT, A. **Ross & Wilson anatomy and physiology in health and illness**. 13. ed. Amsterdam: Elsevier, 2018.

WILKINSON, J. B.; MOOR, R. J. **Cosmetología de Harry**. 1. ed. Madri: Díaz de Santos S. A., 1990.

WILLIAMS, M. R.; COSTA, S. K.; ZARAMELA, L. S.; KHALIL, S.; TODD, D. A.; WINTER, H. L.; SANFORD, J. A.; O'NEILL, A. M.; LIGGINS, M. C.; NAKATSUJI, T.; CECH, N. B.; CHEUNG, A. L.; ZENGLER, K.; HORSWILL, A. R.; GALLO, R. L. Quorum sensing between bacterial species on the skin protects against epidermal injury in atopic dermatitis. **Science Translational Medicine**, [s. l.], v. 11, n. 490, 2019.

WILLIAMS, M. R.; GALLO, R. L. Evidence that human skin microbiome dysbiosis promotes atopic dermatitis. **Journal of Investigative Dermatology**, [s. l.], v. 137, n. 12, p. 2460–2461, 2017.

WONG, R.; GEYER, S.; WENINGER, W.; GUIMBERTEAU, J.-C.; WONG, J. K. The dynamic anatomy and patterning of skin. **Experimental Dermatology**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 92–98, 2016.

XIE, J.; SCHAICH, K. M. Re-evaluation of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 62, n. 19, p. 4251–4260, 2014.

YANG, Y.-S.; KORNELIUS, E.; CHIOU, J.-Y.; LAI, Y.-R.; LO, S.-C.; PENG, C.-H.; HUANG, C.-N. Low-dose aspirin reduces breast cancer risk in women with diabetes: A nationwide retrospective cohort study in Taiwan. **Journal of Women's Health**, [s. l.], v. 26, n. 12, p. 1278–1284, 2017.

YOUSEF, H.; ALHAJJ, M.; SHARMA, S. Anatomy, skin (integument), epidermis. *Em: Statpearls* [INTERNET]. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470464/>. Acesso em: 28 mar. 2023.

ZATZ, J. L.; SEGERS, J. D. Techniques for measuring *in vitro* release from semisolids. **Dissolution Technologies**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 3–17, 1998.

ZHANG, H. **Human thermal sensation and comfort in transient and non-uniform thermal environments**. PhD thesis - University of California, Berkeley 2003.

ZHANG, S.; DUAN, E. Fighting against skin aging. **Cell Transplantation**, [s. l.], v. 27, n. 5, p. 729–738, 2018.

ZHANG, X.; SMITH-WARNER, S. A.; COLLINS, L. C.; ROSNER, B.; WILLETT, W. C.; HANKINSON, S. E. Use of aspirin, other nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and acetaminophen and postmenopausal breast cancer incidence. **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 30, n. 28, p. 3468–3477, 2012.

ZHANG, N.; YUAN, R.; XIN, K. Z.; LU, Z.; MA, Y. Antimicrobial susceptibility, biotypes and phylotypes of clinical *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) *acnes* strains isolated from acne patients: An observational study. **Dermatology and Therapy**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 735–746, 2019.