DESENVOLVIMENTO BIOTECNOLÓGICO DE SÉRUM REJUVENESCEDOR ANTIOXIDANTE CONTENDO ATIVO LIPÍDICO ORIUNDO DA RANA CATESBEIANA SHAW

https://doi.org/10.56238/rabfvv2n1-001

Data de submissão: 25/01/2025 **Data de Publicação:** 25/02/2025

João Victor de Sousa Coutinho
Graduando do Curso de Farmácia do Centro Universitário São Camilo - ES

Nathália Davel de Cerqueira Louzada
Graduanda do Curso de Farmácia do Centro Universitário São Camilo - ES

André Victorio Silva
Professor orientador.
Especialista.
Centro Universitário São Camilo - ES

Otoniel de Aquino Azevedo
Professor orientador.
Mestre.
Centro Universitário São Camilo - ES

RESUMO
O presente artigo propõe uma abordagem inovadora no campo dos cuidados com a pele, com foco no desenvolvimento biotecnológico de um sérum rejuvenescedor antioxidante, incorporando um ativo lipídico proveniente da Rana catesbeiana Shaw. Além de explorar as propriedades antioxidantes desse composto bioativo, a pesquisa enfatiza o processo de desenvolvimento farmacotécnico do sérum. Nesse contexto, foram realizados ensaios físico- químicos e microbiológicos para validar sua eficácia e segurança. Os ensaios físico-químicos abrangendo aspectos cruciais, incluindo análise de peróxidos, acidez titulável, insaturações, bem como ensaio antioxidante, viscosidade e densidade. Esses, não apenas validam a estabilidade e qualidade da formulação, mas também destacam a seleção cuidadosa e a combinação dos ingredientes. Paralelamente, os ensaios microbiológicos foram conduzidos para assegurar a ausência de microrganismos indesejados, reforçando a segurança do produto. Os resultados consolidados desses ensaios respaldam a base científica do sérum, destacando não apenas sua potencial ação rejuvenescedora, mas também sua integridade microbiológica e estabilidade físico-química. Esta pesquisa oferece, assim, uma contribuição significativa para a biotecnologia cosmética, promovendo a inovação sustentável na indústria de cuidados com a pele.

Palavras-chave: Engenharia Cosmética. Rejuvenescimento Facial. Óleo de rã. Sérum. Biotecnologia.

1 INTRODUÇÃO

O processo de envelhecimento é algo natural ao ser humano, todavia, existem fatores que corroboram para a antecipação dos fenômenos relacionados a ele (BOISMAL *et al*., 2020). Nesse sentido, a pele é o órgão em que normalmente se torna notório os primeiros sinais desse processo, permitindo denotar a precocidade do advento de envelhecimento em um indivíduo (ELLIS; KHAVKIN, 2011).

Dentro do âmbito orgânico, conforme uma pessoa tem o avanço de etariedade, há uma redução na atividade metabólica, e consequentes disfunções fisiológicas. Esses processos resultarão na deficiência de determinados insumos e estruturas, como o colágeno e a elastina (ELLIS; KHAVKIN, 2011). Logo, a prioridade fisiológica direcionará grande parte desses para regiões de maior importância, como articulações, acarretando em um déficit na pele (BONTÉ *et al*., 2019). Consequentemente, há uma redução de regeneração celular e uma deficiência em estruturas de sustentação, o que gera a presença de rugas, flacidez e a diminuição de volume das camadas da pele (CSEKES; RAČKOVÁ, 2021; ELLIS; KHAVKIN, 2011).

Ademais, fatores induzidos pelo ambiente estão associados ao fotoenvelhecimento. Frequentemente os seres humanos são expostos, não exclusivamente à um fator, mas a uma combinação desses, que interagem entre si, resultando na potencialização do envelhecimento cutâneo. Dentre esses agentes destacam-se a radiação solar, a poluição do ar, a exposição à fumaça de cigarro, a alimentação, e dentre outros (KRUTMANN *et al.,* 2021).

Os achados clínicos entre esses dois tipos de envelhecimento são distintos. Enquanto o envelhecimento intrínseco pode ser observado em todo o órgão, no envelhecimento extrínseco o acometimento se dá predominantemente nas partes expostas ao ambiente, como face, dorso das mãos e pescoço. Outrossim, os traços evidenciados na pele também são distintos. O intrínseco resulta em linhas finas, flacidez, ressecamento da pele e o atrofiamento gradual dela, ao passo que o extrínseco é marcado pelo surgimento de linhas grossas, textura áspera, perda de elasticidade, pigmentação irregular e lentigo (KRUTMANN *et al.,* 2021, ZHANG; DUAN, 2018).

Tendo em vista que a beleza da pele é um importante indicador de bem- estar do ser humano, várias estratégias são desenvolvidas para driblar o fotoenvelhecimento, como os cosmecêuticos (SHANBHAG *et al.,* 2019). Esses produtos são responsáveis por exercer um benefício farmacoterapêutico sobre a pele, atenuando rugas, linhas de expressão e melhorando o aspecto, que

são as principais marcas do envelhecimento, e tratando ainda outras disfunções estéticas (PANDEY; JATANA; SONTHALIA; 2022).

Além disso, com a influência da mídia, alertando sobre os benefícios dos compostos bioativos, a indústria cosmética tem apostado cada vez mais na elaboração de formulações com produtos naturais (ALVES *et al*., 2020). E com o avanço das tecnologias aplicadas a farmacotécnica, diversas formas farmacêuticas inovadoras vem sendo desenvolvidas e aplicadas no mercado, como os séruns, que consistem em um produto fluido viscoso, de fácil aplicação e espalhabilidade, contendo altos índices de ativos (SASIDHARAN; JOSEPH, 2014).

Nesse contexto, o óleo extraído da *Rana catesbeiana* Shaw (Rã touro) vem sendo estudado devido as suas propriedades terapêuticas, provenientes principalmente da presença de ácidos graxos. Alguns efeitos já elucidados apontam ação na pele devido a interação do ácido linoléico e linolênico, que garantem a elasticidade, integridade cutânea, impedindo a desidratação trasepidérmica (BELDA; POURCHET-CAMPOS, 1991).

Ademais, um estudo recente indicou atividade contra melanomas, por vias de ação frente a radicais livres (EROS), ressaltando o potencial antioxidante dos lipocomponentes desse óleo, protegendo o DNA celular e cito estruturas (MACHADO *et al.,* 2019). Logo, o óleo de rã touro (BO) pode se apresentar como um ativo promissor no desenvolvimento de formulações para o rejuvenescimento facial.

Mediante ao exposto, o objetivo do presente trabalho consiste em desenvolver um sérum emulsionado com enfoque rejuvenescedor, contendo ativo lipídico caracterizado, oriundo da rã-touro, com viabilidade comercial.

2 METODOLOGIA

O estudo consistiu em uma pesquisa exploratória, quantitativa e qualitativa, com natureza experimental. Para o auxílio em sua elaboração, foi estabelecido um levantamento de revisão bibliográfica nas bases de dados PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO), e demais bases informacionais. Para tal foram utilizados os descritores “Rana catesbeiana”; “Skin Aging”; “Cosmetic Technology”, todos devidamente padronizados como descritores em ciências da saúde (DeCS/MeSH). Outrossim, também foi adotado protocolos de análise, extração, purificação e desenvolvimento, os quais serão listados na sequência da obra em questão.

2.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

As rãs foram obtidas em um ranário localizado no município de Jerônimo Monteiro, com certificação na produção específica da espécie descrita nesse trabalho. No mesmo local essas foram submetidas ao abate sob condições controladas, visando mitigar possíveis impactos metabólicos que interfiram na matéria prima pretendida para o beneficiamento.

Após o abate e a evisceração, o corpo gorduroso do animal foi depositado em caixa térmica, refrigerada com o auxílio de placas de gelo, a aproximadamente - 5°C, seguindo para as instalações laboratoriais da instituição de pesquisa, onde a matéria prima foi condicionada em freezer, a uma temperatura de aproximadamente - 20°C.

2.2 EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO

Visando viabilizar a extração do BO, a amostra sofreu processamento em multiprocessador de alimentos, após ser descongelada em ambiente com temperatura aproximada de 5°C, e em seguida obteve-se 500g de material triturado, que foi condicionado em um béquer de 2000 mL, sendo imerso no solvente orgânico Hexano. Subsequentemente, a vidraria supracitada foi depositada na câmara de resfriamento de um chiller, a aproximadamente - 20°C, com banho Maria invertido de etanol, durante uma hora, em um sistema de agitação mecânica constante.

Após tal extensão temporal, foi feito o escoamento do extrato obtido, e com os sólidos do corpo gorduroso restantes se repetiu o processo mais duas vezes, todavia, com intervalos de tempo inferiores, sendo esses de trinta e quinze minutos. Com a obtenção dos extratos lipídicos do anfíbio, foi conduzida uma filtragem simples, visando a retenção de quaisquer partículas solidas originárias do corpo gorduroso.

Logo após o discorrido, o extrato bruto foi encaminhado para um evaporador rotativo, acoplado a uma bomba de vácuo, e a um sistema de refrigeração com etanol a -20°C, visando a sua purificação. E posteriormente, o extrato primário foi filtrado em filtro analítico embebido em solução salina, e posteriormente em filtro de carvão ativado. Com isso, foi obtido um extrato purificado.

2.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA

Após o seu descongelamento, o corpo gorduroso foi processado, pesado (5 g) e submetido ao ensaio de Goldfish, visando determinar o quantitativo macrobioquímico de lipídeos totais em sua

estrutura. Para isso, foram utilizados 120 mL de Éter de Petróleo, depositados em um copo extrator, para a sequência do método.

Para a determinação dos constituintes químicos, foi utilizado o aparelho de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/MS), planejando a corrida da amostra em função do tempo, em uma dada rampa de aquecimento. Tal processo possuiu como fim a separação e a identificação das estruturas orgânicas graxas que compõem o BO, seguindo a biblioteca do dispositivo.

Outrossim, para a determinação da densidade, foram utilizados balões volumétricos de 5 mL, se obtendo os resultados por métodos gravimétricos. Já para as análise de viscosidade foi utilizada uma adaptação do método de Ostwald, onde se avaliou o tempo de escoamento de 10 mL do óleo em cilindro com demarcação volumétrica (ADOLFO LUTZ, 2008).

2.4 CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DO ÓLEO DE RÃ TOURO

Quanto as análises físico-químicas, foram avaliados o índice de peróxidos, acidez titulável, insaturações utilizando os métodos descritos no Manual de Métodos Analíticos do Instituto Adolfo Lutz (2008), sendo todas as análises conduzidas em triplicatas. Para a obtenção do índice de peróxidos foram utilizados 5 g do BO diluído em solução de Ácido Acético e Clorofórmio, na proporção 3:2, 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio, e 0,5 mL de solução indicadora de amido 1%, e posteriormente se conduziu a volumetria titulométrica, tendo como agente titulante a solução de Tiossulfato de Sódio 0,1 M.

O índice de acidez também foi obtido por meio da técnica de titulometria, fazendo uso de 5 g de BO diluído em solução de Éter Etílico e Etanol, na proporção 2:1, e 2 gotas de Fenolftaleína Alcoólica 1% como indicador, possuindo como titulante a solução 0,1 M de Hidróxido de Potássio. Já para a análise de insaturações, foi pesado 0,22g do BO em Erlenmeyer de 500 mL, juntamente com 15 mL de Clorofórmio e 25 mL do Reagente de Wijs, sendo posteriormente tampado e acondicionado a abrigo da luz por uma hora. Após isso, foram adicionados 15 mL de Iodeto de Potássio a 15% e 100 mL de água destilada, seguindo para titulação com Tiossulfato de Sódio 0.1 M, com a pipetagem de 2 mL de solução indicadora de Amido 1% durante o processo, e continuou-se o processo até o desaparecimento da tonalidade escura.

2.5 CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO

Quanto ao ensaio microbiológico foi realizado o cultivo do em meio de cultura Ágar MacConkey, Sangue e Sabouraud, a fim de avaliar o crescimento bacteriano e fungíco da amostra. Para isso, o meio foi invertido em placa de cultura, sendo realizado em triplicata, e quando já estava em temperatura ambiente foi adicionado 1 mL do óleo de rã touro em cada uma das placas identificadas e em seguida levado para estufa por 24 horas para avaliar o crescimento microbiológico. Na sequência foi realizada a contagem visual de UFC. Também foi executado o memso protocolo para a análise do sérum desenvolvido.

2.6 ENSAIO ANTIOXIDANTE

Para o ensaio antioxidante foi utilizado o método de captura de radical livre N,N-dietil-1,4-fenilenodiamino (DPD). O radical citado foi obtido por meio da reação do DPD (Solução de Éter:Etanol 2:1 a 2 mmol L^{-1}) com o Ferro III, a 0,2 mmol L^{-1}. Logo após, foi adicionado 1 mL da solução contendo o radical em 45 tubos de ensaio. Para o ensaio foram pipetados 5, 10, 50, 100 e 500 µL/mL, em sistema de triplicata, sendo 15 com o BO, 15 com o controle positivo de BHT (Solução alcoólica 0,1 M), e 15 com o controle negativo de solução de Éter:Etanol 2:1. Se aguardou ao repouso da luz por volta de 10 minutos, e em sequência foi executada a leitura em espectrofotómetro, a 540 nm, sendo realizado os cálculos com base na absorbância (FOGLIANO et al., 1998; HSBD, 2023; SANTOS et al., 2015)

2.7 DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO

O produto desenvolvido consiste em um sérum emulsionado, contendo bases oleosas e hidrossolúveis, bem como agentes emulsionantes, conservantes e adjuvantes farmacotécnicos. Para a sua execução foi empregada a metodologia de Quality by Designer (QbD), realizando a avaliação de risco e o planejamento experimental pautada nessa avaliação.

Após testes primários, foi possível obter a fórmula descrita na tabela 01, que foi preparada utilizando técnicas clássicas de farmacotécnica, sendo homogeneizada via agitador mecânico, sem qualquer espécie de injeção de calor, obtendo-se 300 mL de sérum. E após a obtenção da fórmula, essa foi condicionada em frascos âmbar de vidro.

Tabela 01: Fórmula do sérum a base de BO

FÓRMULA DO SÉRUM			
FASE	**MATÉRIA PRIMA**	**INCI NAME**	**(%)**
1	ÁGUA	AQUA/WATER	qsp
1	ARISTOFLEX® AVC	Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer	0.300
1	GLICERINA	Glycerin	5.000
2	ÓLEO DE RÃ-TOURO	Bullfrog Oil	2.000
2	VITAMINA E	Tocopheryl Acetate	0.500
2	ÓLEO ESSENCIAL DE BERGAMOTA	Citrus aurantium bergamia Fruit Oil	0.700
3	NIPAGIM	Methylparaben	0.150
3	BHT	Hidroxitolueno Butilado	0.200
4	TWEEN 80®	Polysorbate 80	1.000

Fonte: AUTORES, 2025

2.8 ESTUDOS DE QUALIDADE, ESTABILIDADE E DEGRADAÇÃO

Diversos testes foram empregados para avaliar a qualidade, estabilidade e degradação. O primeiro consiste no de centrifugação, onde o produto foi rotacionado em centrífuga ao longo de 10 minutos, com 3000 RPM, sendo feita uma avaliação microscópica. Ademais, ocorreu o teste de ciclo gelo-degelo, onde o sérum foi condicionado em ambiente com a temperatura estimada de - 5°C durante 24h e depois levado a estufa com 50°C ao longo do mesmo espaço de tempo. Esse ciclo se repetiu por 4 dias, e no quinto se avaliou a condutividade, e o pH, por técnicas potenciométricas, a densidade e o índice de peróxidos e acidez titulável, seguindo a metodologia supracitada (BRASIL, 2008).

O produto formulado também foi deixado em temperatura ambiente durante 4 meses, no ensaio de *Shelf-Life*, e a cada mês se avaliou o índice de peróxidos e acidez presentes, condutividade, pH e densidade. Isso permitirá avaliar o potencial de prateleira do produto ao longo dessa duração. As metodologias descritas constam no Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos, desenvolvido pela ANVISA (BRASIL, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA DO ÓLEO DE RÃ TOURO

Ao conduzir o ensaio de Goldfish, visando detectar o percentual da composição macrobioquímica de lipídios no corpo gorduroso, foi obtido o valor de 83,843 ± 0,991%. E a extração com Hexano, em banho Maria invertido, atingiu um aproveitamento de 67,9%, apresentando um

rendimento similar aos descritos por Perina (2016), em réplicas diversas entre 62,78 ± 0,44% e 68,17 ± 0,05%, com variação térmica entre 25 °C e 80 °C.

Posteriormente, com a execução da caracterização de microcomponentes lipomoleculares, utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas, se elucidou a composição do insumo extraído, como pode ser observado na tabela 02. Nessa, também há um comparativo com outros estudos, onde Lopes e colaboradores (2010) não constataram a presença do Ácido Eicosapentaenóico, e tais autores, assim como Silva e pesquisadores parceiros (2004), detectaram a presença de Ácido Araquidônico. Apenas Méndez et al (1998) apresentaram exatamente os mesmos componentes graxos, todavia existindo uma variação quantitativa.

Tabela 02: Composição química do BO

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE RÃ TOURO				
COMPONENTES GRAXOS	**AUTORES**	**MENDEZ et al., 1998**	**SILVA et al., 2004**	**LOPES et al., 2010**
Ácido Mirístico (14:0)		1,6	2,7	2,77	2,8
Ácido Palmítico (16:0)		17,52	18,1	11,91	18,5
Ácido Esteárico (18:0)		3,21	4,1	2,34	3,2
Ácido Oléico (18:1 n-9)		34,96	31,7	37,6	36,3
Ácido Linoléico (18:2 n-6)		21,8	12,9	23,78	25
Ácido Linolênico (18:3 n-3)		1,27	1,4	1,97	2,1
Ácido Palmitoleico (16:1 n-7)		6,28	8	17	9,4
Ácido Eicosapentaenóico-EPA (20:5 n-3)		0,12	1,5	0,46	-
Ácido Docosaexaenóico-DHA (22:6 n-3)		0,27	4,7	0,91	0,1
Ácido Araquidônico AA (20:4 n-6)		-	-	0,74	0,6

Fonte: AUTORES, 2025 – Adaptado de: LOPES et al., 2010; SILVA et al., 2004; MENDEZ et al.,1998

Salienta-se, entretanto, que a composição do BO é interferida pela dieta empregada nos ranários, pois, esses lipídios não são oriundos do metabolismo intrínseco das rãs (Filho et al., 2008). Sendo assim, como aponta Hayashi e parceiros de estudo (2004), a criação de rãs com protocolos alimentares utilizando rações ricas em ácidos graxos influirá diretamente na obtenção de extratos lipofílicos com maiores rigores, no que diz respeito à composição.

Os últimos testes de caracterização foram voltados para perfis de propriedades físicas, com os resultados expressos na tabela 03. Quanto à densidade do insumo, foi obtido o valor de 0.905 ± 0.006 g/mL, estando esse em proximidade quantitativa com as caracterizações de outros óleos, realizadas por

Sahasrabudhe et al (2017), que foram de 0,913 ± 0,007 g/mL; 0,915 ± 0,007g/mL; 0,909 ± 0,007g/mL; 0,912 ± 0,007g/mL; 916 ± 0,007g/mL, referentes aos óleos de canola (*Brassica napus*), milho (*Zea mays*), oliva (*Olea europaea* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e soja (*Glycine max* L.), respectivamente.

Tabela 03: Caracterização física do BO

DETERMINAÇÃO D	E DENSIDADE E VIS	COSIDADE DO ÓLEO DE RÃ-TOURO
RÉPLICA	DENSIDADE	VISCOSIDADE CINEMÁTICA
1	0.898 g/mL	62.474 mPas. S
2	0.906 g/mL	61.871 mPas. S
3	0.912 g/mL	62.989 mPas. S
	0.905 ± 0.006 g/mL	62.445 ± 0.457 mPas. S

Fonte: AUTORES,2025

Além da densidade, também foi avaliada a viscosidade, sendo encontrado um valor de 62.445 ± 0.457 mPas. S. Esse também mantém um perfil similar a outros óleos, como expressa os resultados obtidos por Silva e colaboradores (2012), sendo esses de 59,0 mPas.s; 67,6 mPas.s; 58,3 mPas.s; 73,8 mPas.s, para soja (*Glycine max* L.), milho (*Zea mays*), girassol (*Helianthus annuus* L.) e arroz (*Oryza sativa*), respectivamente. Sendo assim, tanto a densidade quanto a viscosidade do BO se estabelece em similaridade com perfis físico-químicos de óleos utilizados no cotidiano da sociedade, para diversos fins.

3.2 CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DO ÓLEO DE RÃ TOURO

De acordo com Silva e colaboradores (1999), a análise de peróxidos permite mensurar quantitativamente o processo inicial de oxidação lipídica, denotando os impactos que diversos agentes podem influir em um óleo. Portanto, elevadas taxas indicam uma maior degradação de matrizes graxas, o que impacta diretamente nos efeitos biológicos dos compostos bioativos, além de transformar essas moléculas em estruturas passíveis a induzir o estresse oxidativo (PIZZINO et al., 2017; PERCÁRIO et al., 2020).

Na tabela 04 é possível vislumbrar os dados referentes à análise do índice de peróxidos, onde foi obtido um valor de 21,703 ± 0,384 mEq/Kg, estando em consonância com os descritos na literatura. Machado (2015) e Coutinho et al (2023), ao conduzirem a mesma análise, com o óleo obtido por extração com Hexano, constataram um valor de 35,87 ± 1,021 mEq/kg e 23,52 ± 0,684 mEq/kg,

respectivamente. Diante disso, torna-se perceptível que a matriz extraída possui baixo índice de degradação por oxidação.

Tabela 04: Controle de qualidade físico químico do BO

	ANÁLISE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DO		ÓLEO DE RÃ-TOURO
RÉPLICA	**ÍNDICE DE PERÓXIDOS**	**ÍNDICE DE ACIDEZ TITULÁVEL**	**ANÁLISE DE INSATURAÇÕES**
1	21.78 mEq	1.39 mg de KOH/g de BO	145.16 mEq O2 ativo/1000g BO
2	21.20 mEq	1.39 mg de KOH/g de BO	144.70 mEq O2 ativo/1000g BO
3	22.13 mEq	1.86 mg de KOH/g de BO	145.28 mEq O2 ativo/1000g BO
	21.703 ± 0.384 mEq	1.547 ± 0.222 mg de KOH/g BO	145.047 ± 0.250 mEq O2 ativo/1000g BO

Fonte: AUTORES, 2025

Quanto ao perfil de acidez titulável, segundo Costa e autores parceiros (2006), refere-se ao índice de degradação dos lipocomponentes, permitindo avaliar a qualidade da matéria prima. Com a realização da titulação foi obtido um resultado de 1,547 ± 0,222 mg de KOH/g de BO, estando esse próximo a trabalhos expostos em bancos de dados. Coutinho e demais colaboradores (2023) descreveram um valor de 2,956 mg de KOH/g ± 0,784 mg de KOH/g de BO, enquanto Machado (2015) um quantitativo de 2,9 ± 0,044 mg de KOH/g de BO. Nesse sentido, a amostra analisada também apresentou um perfil de qualidade superior aos dados secundários comparados.

Já as análise de insaturações, por titulação, geram reações de adição por Iodo em carbonos insaturados, ocasionando a quebra de ligações do tipo π entre esses homoátomos, permitindo analisar as estruturas moleculares em seus perfis de ligação (FREIRE et al., 2013). Por meio de tal método em volumetria, foi obtido um índice de Iodo de 145,047 ± 0,250 mEq O2 ativo/1000g BO, sendo assim, ele possuiu um maior perfil de insaturações que a amostra descrita por Machado (2015), que registrou um valor de 78, 604 ± 0,810 mEq O2 ativo/1000g BO, demonstrando um maior quantitativo de ácidos graxos insaturados.

3.3 CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DO ÓLEO DE RÃ TOURO

A contaminação microbiana de um produto não estéril além de causar risco de infecção para o usuário, pode conduzir à deterioração dele a partir das mudanças físicas e químicas associadas. Consequentemente, os produtos farmacêuticos orais e tópicos, que não são estéreis, devem ser submetidos aos controles microbiológicos. Sendo assim, para cada tipo de insumo farmacêutico há um

limite aceitável de presença de bactérias e fungos. No que diz respeito aos produtos de origem animal e mineral para uso tópico, o limite de UFC para bactérias é de até 2 x 10^2 e para fungos de até 2 x 10^1 (BRASIL, 2019).

Nesse sentido, os valores encontrados após a análise microbiológica do óleo de rã touro, estão em conformidade com o que preconiza a Farmacopeia Brasileira (2019, 6ª ed), haja vista que os resultados obtidos foram de 0,33 x 10 ± 2,08 UFC para bactérias e 1,4 x 10^1 ± 2,52 UFC para fungos.

3.4 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

Validar o efeito biológico de insumos farmacêuticos consiste em uma etapa fundamental no desenvolvimento de produtos, permitindo mensurar as possibilidades de aplicação (SANTOS et al., 2015). Sendo assim, na tabela 05 é possível observar os resultados do índice de atividade antioxidante (IAA), em porcentagem. Tal avaliação esclareceu que BO possuiu índices superiores que o grupo controle, onde se utilizou a solução de BHT 0,1 M, em todas as concentrações testadas.

Tal achado corrobora com os descritos por Machado et al (2019), que evidenciaram a ação do BO na mitigação de marcadores de inflamação e oxidação, em culturas de células. Sendo assim, torna-se notório o valor terapêutico atribuído ao insumo abordado, o destacando como um ativo cosmético com potencial frente a danos ocasionados por estresse oxidativo, que culminem no envelhecimento da pele.

Tabela 05: Ensaio antioxidante do BO

ENSAIO ANTIOXID	**ANTE DO ÓLEO DE RÃ TOURO**	
CONCENTRAÇÃO	**%IAA**	
	BO	**BHT**
5 µg/mL	3,91 ± 0,37%	2,89 ± 0,49%
10 µg/mL	10,04 ± 0,64%	6,21 ± 0,34%
50 µg/mL	29,51 ± 0,21%	17,34 ± 0,67%
100 µg/mL	40,28 ± 1,04%	28,71 ± 0, 81%
500 µg/mL	61,77 ± 1,41%	43,34 ± 1, 69%

Fonte: AUTORES, 2025

3.5 ENGENHARIA COSMÉTICA POR QbD

Mediante ao exposto, técnicas biotecnológicas em engenharia de cosméticos apresentam-se como uma alternativa viável para o desenvolvimento de produtos à base o BO, e na contemporaneidade, as estratégias de Quality by Designer (QbD) são as grandes norteadoras para a elaboração dessas

formulações (YU *et al.,* 2014). Tal técnica baseia-se na construção de produtos já prevendo possíveis impasses, como instabilidade de ativos, degradação em ambientes específicos, interações químicas e físicas entre os componentes da fórmula e materiais das embalagens, além de potenciais extraíveis e lixiviáveis (SWAIN *et al.,* 2019; BRASIL, 2020).

Sendo assim, é necessário um estudo minucioso de todos os componentes do produto, desde a sua fórmula até a sua embalagem, traçando metodologias que mitiguem ou inibam possíveis danos a ele. Desse modo, cabe uma análise de possíveis fatores relacionados ao BO que possam interferir em formulações que o possuam como base (YU *et al.,* 2014).

Em primeira análise, é notório que alguns intemperes apresentam-se como dificultadores para a aceitabilidade do BO pelo mercado consumidor, como determinadas características organolépticas, sobretudo no que diz respeito ao seu odor. Mediante a tal realidade, estratégias farmacotécnicas necessitam ser traçadas, visando viabilizar a aceitabilidade de fórmulas com esse composto (ALENCAR, 2013).

De acordo com os estudos desenvolvidos por Machado (2015), a emulsificação do BO é uma técnica viável para reduzir o odor característico desse insumo, que associado a incorporação de fragrâncias nas formulação gera uma viabilidade mercadológica. Nesse, ensejo foi adicionado a fórmula óleo essencial de bergamota, que associado a emulsão gerou uma neutralização do aroma do BO.

Além do odor, a baixa permeação cutânea manifestam-se como um impasse para o uso do BO, todavia, esse foi ser resolvido com a adição da glicerina, que permitirá uma melhor absorção do ativo, além de viabilizar a umectação das camadas da pele. A baixa espalhabilidade de tal produto também caracteriza um problema (ALENCAR, 2013), que do mesmo modo foi solucionado com a estruturação de emulsão na forma de séruns.

Outro critério que deve ser levado em consideração diz respeito a estabilidade do BO, tendo em vista que ele é uma matriz lipídica, passível a propagação de reações oxidativas, que podem desencadear a sua rancificação e perda de função bioativa. Rutckeviski e seus colaboradores (2017) demonstraram que o BHT foi o agente mais efetivo no controle da oxidação lipídica desse insumo. Tendo isso em vista, esse foi aplicado a fórmula do sérum desenvolvido.

Outrossim, tratando acerca da indução de oxidação, salienta-se sobre a importância do material utilizado para a embalagem do produto final, pois, a utilização de determinados polímeros podem viabilizar a permeação de oxigênio e fótons para o interior do frasco (BALAN; BÓCOLI, 2018). Logo, o vidro âmbar temperado apresenta-se como uma matéria prima que fornecerá uma melhor proteção

para o sérum, reduzindo fatores de propagação de peróxidos, por isso ele foi adotado para o condicionamento do produto.

3.6 FARMACOLOGIA DA FORMULAÇÃO

No que diz respeito ao ativo lipídico utilizados para a formulação do sérum rejuvenescedor, destacam-se os principais compostos químicos encontrados nele: Ácido Oléico, Ácido Linolênico (ALA) e Ácido Linoléico (LA). Alguns estudos já demonstram a aplicação desses ácidos graxos para o tratamento de doenças relacionadas à pele e seu uso inclui terapias para o fotoenvelhecimento, casos de dermatites, hiperpigmentação, câncer e cicatrização de feridas, inclusive alguns desses componentes já foram aprovados para uso clínico ou estão em fase de estudos para fins terapêuticos ou preventivos (HUANG et al, 2022).

Se tratando de fotoenvelhecimento, os tecidos conjuntivos são danificados pela exposição solar resultando nos sinais clássicos de envelhecimento, como rugas, flacidez, hiperpigmentação e espessamento dérmico. Além disso, a produção de EROS, induzida pela radiação solar na pele, ativa as vias de sinalização da MAP quinase e, consequentemente, estimula as secreções de citocinas inflamatórias. Essa superexpressão de EROS podem resultar na degradação de colágeno e fibras elásticas (CHOI et al, 2020).

De acordo com Huang e colaboradores (2022) esses ácidos graxos podem atuar em associações para a proteção da pele. Os PUFAs ômega-3 como o Ácido Linolênico (ALA), podem diminuir a supressão de eicosanóides pró- inflamatórios por meio da competição direta com o metabolismo do Ácido Araquidônico (AA). Além disso, esses compostos podem diminuir o dano aos queratinócitos induzidos por radiação UV, por meio da regulação das vias COX- 2, NF-Kb e MAP quinase.

Já o Ácido Linoleico (LA), classificado como PUFAs ômega 6 é o ácido graxo mais rico da camada epidérmica, sendo inclusive um precursor da síntese de ceramida, um insumo predominante da matriz lipídica do estrato córneo intercelular, produzindo a barreira cutânea da pele. Tal substância age como modulador da membrana celular protegendo a pele contra agentes químicos e enzimáticos. Atua ainda como um importante agente restaurador tecidual, uma vez que promove quimiotaxia e angiogênese, além disso é responsável pela manutenção do meio úmido e por acelerar o processo de granulação tecidual, regulando a permeabilidade da barreira de água da pele e proporcionando a nutrição celular local (LI et al., 2020)

O Ácido Oléico (OA), por sua vez tem sido estudado como um potencializador na penetração de ativos na pele, por intermédio de sua ação principalmente no estrato córneo. Os lipídios da camada córnea se encontram nos espaços intercelulares, organizados em bicamadas lamelares, constituindo a barreira primária de permeabilidade da pele. Quando aplicado a pele, o OA atua desorganizando essas camadas lamelares e assim aumenta a permeação percutânea (JIANG; ZHOU, 2003).

Somado a esses compostos bioativos presentes no BO, para a elaboração da formulação cosmética, foram incorporados ativos para potencializar esses efeitos benéficos sobre a pele. Nesse sentindo foi adicionado a vitamina E e glicerina como coadjuvantes para o desenvolvimento do sérum rejuvenescedor. Na indústria cosmética, a vitamina E é amplamente utilizada devido seus efeitos antioxidantes e protetores de radiação UV, que atuam na fotoproteção e consequentemente retardando o envelhecimento da pele (ZAFFARIN et al, 2020).

Um estudo realizado por Makpol e colaboradores (2013) no modelo de senescência prematura induzida por estresse de fibroblastos diplóides humanos, para determinar a expressão de colágeno em níveis genéticos e proteicos demonstrou que a vitamina E, exibiu efeito antienvelhecimento por meio da sua capacidade de aumentar a síntese de colágeno e prevenir a degradação desse.

Adicionalmente, o uso de glicerina é altamente empregado no desenvolvimento de cosméticos, devido ao seu poder umectante. A utilização de ativos eficazes na retenção da umidade da pele nesses produtos pode auxiliar contra o envelhecimento cutâneo, uma vez que a perda da hidratação resulta no ressecamento, que acarretará em rugas e flacidez da pele. Nesse sentido, vários estudos têm buscado umectantes que apresentem alta eficácia na retenção de água no estrato córneo humano (CHEN et al, 2022).

3.7 TESTES DE QUALIDADE, ESTABILIDADE E DEGRADAÇÃO COSMÉTICA

A contaminação com microrganismos acomete a grande maioria dos produtos cosméticos. Sendo assim, o controle de qualidade microbiológico de produtos não estéreis, admite a presença limitada de carga microbiana e tem como objetivo principal comprovar a ausência de microrganismos patogênicos e determinar o número de células microbianas viáveis (SILVA, 2019).

Diante disso, conforme os resultados do controle microbiológico dispostos, as placas específicas para o crescimento tanto de bactérias como de fungos, contendo o sérum, não apresentaram crescimento de microrganismos fora dos padrões especificados, como rege a Farmacopeia (BRIASIL, 2019).

Em conformidade com o que preconiza tal registro legal brasileiro, em sua VI edição (2019), o limite máximo permitido para bactérias aeróbias mesófilas é de 2 x 10^2 UFC/g e estabelece ainda que o limite máximo para fungos é de 2 x 10^1 UFG/G. Portanto, embora a amostra tenha apresentado crescimento microbiano e fungicida, o número de UFC encontra-se abaixo do limite máximo estabelecido, apresentando uma média de 1,2 x 10 ± 1 UFC para bactérias e 1,5 x 10^1 ± 2,08 UFC para fungos.

Além dos parâmetros microbiológicos no controle de qualidade de cosméticos, é essencial primar por uma compreensão físico-química acerca desse. Diante disso, o ensaio *Shelf-Life* permite avaliar o potencial de prateleira do produto, observando padrões relacionados a sua estabilidade e degradação. Na tabela 06 é possível observar os resultados de tal ensaio, e diante desse, torna-se notório que na curva espaço temporal avaliada o produto seguiu perfis condizentes com as diretrizes legais vigentes (BRASIL, 2004).

Tabela 06: Ensaio *Shelf-Life*

	ENS	**AIO *SHELF-LIF***	***E***	
PARÂMETRO	**AGOSTO**	**SETEMBRO**	**OUTUBRO**	**NOVEMBRO**
pH	5,54 ± 0.016	5,48 ± 0.021	5,51 ± 0.012	5,49 ± 0.008
CONDUTIVIDADE	50,1 ± 3.193 mV	53,7 ± 1.248 mV	51,4 ± 2.169 mV	52,336 ± 1.274 mV
ACIDEZ TITULÁVEL	0,212 ± 0.024 KOH/g	0,215 ± 0.037 KOH/g	0,219 ± 0.017 KOH/g	0,222 ± 0.041 KOH/g
PERÓXIDOS	7,21 ± 0.741 mEq	7,274 ± 0.211 mEq	7,721 ± 0.424 mEq	7,728 ± 0.424 mEq
DENSIDADE	1 ± 0,022 g/mL	1 ± 0,018 g/mL	1 ± 0,013 g/mL	1 ± 0,017 g/mL

Fonte: AUTORES, 2025

Outrossim, também foi conduzido o ensaio do ciclo gelo-degelo, o qual se inclui nos parâmetros de estudos de degradação forçada, permitindo denotar aspectos físico-químicos após um estresse intenso de variações térmicas. E com tal avaliação, foi possível perceber que as variações se estabelecem dentro de padrões estabelecidos pela ANVISA (2004).

Tabela 07: Ciclo gelo-degel

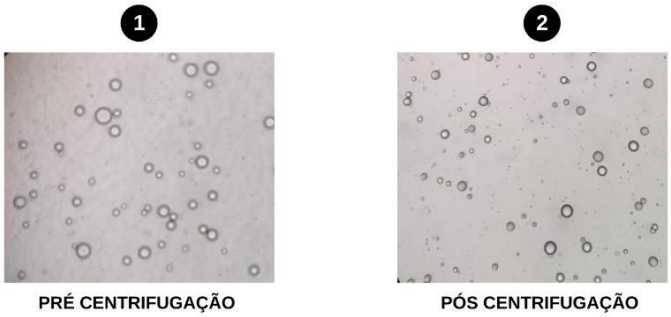
ENSAI	**O DO CICLO GELO-**	**DEGELO**
PARÂMETRO	**PRÉ ENSAIO**	**PÓS ENSAIO**
pH	5,54 ± 0.016	5,17 ± 0.012
CONDUTIVIDADE	50,1 ± 3.193 mV	69,1 ± 1.257 mV

ACIDEZ TITULÁVEL	0,212 ± 0.024 KOH/g	0,427 ± 0.068 KOH/g
PERÓXIDOS	7,21 ± 0.741 mEq	9,071 ± 0.327 mEq
DENSIDADE	1 ± 0,022 g/mL	0,98 ± 0,015 g/mL

Fonte: AUTORES, 2025

Ademais, com o teste de centrifugação, foi possível evidenciar a estabilidade da formulação, sendo visualizado poucos danos físicos as cápsulas de emulsão, como é notório na figura 01. De acordo com Gonçalves e colaboradores (2020) tal achado ressalta a qualidade estrutural da fórmula, confirmando a qualidade da formulação, em seus critério físicos.

Figura 01: Teste de centrifugação



Fonte: AUTORES, 2025

3.8 PERSPECTIVAS E RUMOS DE PESQUISA

Segundo Santos e autores parceiros (2019), a continuidade de estudos científicos, apesar de por vezes se manifestar como um desafio, é essencial para o progresso da sociedade. Diante disso, é visível a necessidade do avanço nas investigações acerca do produto desenvolvido, primariamente o que tange a sua toxicidade, e posteriormente a sua efetividade cosmecêutica, no efeito proposto no trabalho.

Ademais, evidências expostas em dados secundários, permitem a formulação da hipóteses de atividade biológica voltadas para fins estéticos, como finalidades tricológicas focados na terapia da alopécia androgenética, por meio da capacidade de inibição da enzima 5-alfa-redutase de determinados componentes do BO, como Katzer et al (2019) já destacaram em estudo.

Além de produtos capilares, os efeitos antioxidante e anti-inflamatório criam um enredo de pesquisa para a terapêutica da acne e do melasma, com a possibilidade de desenvolvimento de diversas formas cosméticas. Pois, assim como relata Miot e colaboradores (2009) e Costa e autores associados (2008), a fisiopatologia de tais afecções necessitam de protocolos com ativos que exerçam tais efeitos biológicos, ressaltando as lacunas e os campos de possíveis aplicações do BO.

Outrossim, há a possibilidade da incorporação de outros ativos a formulação, associando com terapias de suplementos orais, visando fornecer matrizes funcionais e nutricionais para que os sistemas bioquímicos consigam desempenhar uma resposta acentuada na estruturação cutânea. Alves et al (2020) e Dini e Laneri (2019), ressaltam a fundamentabilidade da associação de protocolos tópicos e internos, para uma melhor efetividade terapêutica, no que diz respeito à manutenção estética com saúde.

4 CONCLUSÃO

Em conclusão, o desenvolvimento biotecnológico do sérum rejuvenescedor antioxidante, contendo o ativo lipídico oriundo da *Rana catesbeiana Shaw*, representa uma promissora inovação na pesquisa de cuidados com a pele. A formulação desenvolvida, respaldada pelos ensaios físico-químicos e microbiológicos abrangentes, não apenas evidencia um potencial efeito rejuvenescedor do produto, mas também garante sua segurança e estabilidade. A sinergia entre a biotecnologia e ativos naturais, ao explorar compostos bioativos provenientes de fontes como a *Rana catesbeiana Shaw*, destaca uma tendência emergente na busca por ingredientes sustentáveis e eficazes na indústria cosmética. Este estudo não apenas oferece uma opção inovadora para o consumidor em termos de cuidados com a pele, mas também contribui para a evolução do conhecimento científico, impulsionando a inovação e a integridade na produção de cosméticos.

REFERÊNCIAS

ALVES, A. et al. Marine-Derived Compounds with Potential Use as Cosmeceuticals and Nutricosmetics. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 2536, 29 maio 2020.

COSTA, A.; ALCHORNE, M. M. DE A.; GOLDSCHMIDT, M. C. B. Fatores etiopatogênicos da acne vulgar. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 83, n. 5, p. 451–459, 1 out. 2008.

ALENCAR, Everton do Nascimento. **Avaliação da atividade antimicrobiana de sistemas emulsionados contendo óleos naturais para o tratamento de infecções cutâneas**. 2013. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

ALVES A, SOUSA E, KIJJOA A, PINTO M. Marine-Derived Compounds with Potential Use as Cosmeceuticals and Nutricosmetics. **Molecules**, Suiça, v.25, Ed. 11, p. 2536, 2020.

BALAN, S.; JAIME, M.; BÓCOLI, P. BARREIRA À LUZ DE EMBALAGENS DE VIDRO. [s.l: s.n.], 2018.

BELDA, M. C. R.; POURCHET-CAMPOS, M. A. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. **Cienc Tecnol Aliment**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 5-35, 1991.

BOISMAL, Françoise *et al*. Vieillissement cutané: Physiopathologie et thérapies innovantes. **Med Sci (Paris)**, [*s. l.*], v. 36, n. 12, 2020.

BONTÉ, Frédéric *et al*. Skin Changes During Ageing. **Subcellular Biochemistry**, [*s. l.*], v. 91, n. 01, p. 249–280, 2019.

BRASIL. IN N° 65 de 20 de Agosto de 2020. Ministério da Saúde: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2020/in065_20_08_2020.pd f>. Acesso em: 3 maio. 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Farmacopeia Brasileira. 6. ed. Brasília, DF. v.1 e 2. Brasília, v.1, 2019.

COSTA, AGV, BRESSAN, J, SABARENSE, CM. Ácidos Graxos Trans: Alimentos e Efeitos na Saúde**. ALAN**. 2006; 56 (1):12-21.

COUTINHO, J. V. de S. et al. A determinação do índice de acidez e de peróxidos em amostras de óleo extraídas da *Rana catesbeiana (Shaw)* como estratégia no ensino dos processos de oxidação em compostos orgânicos. **Anais do II Simpósio Educação em Ciência**, UFRJ. 2023.

CHEN, H. J. et al. Moisture retention of glycerin solutions with various concentrations: a comparative study. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 17 jun. 2022.

CHOI, H. J. et al. Therapeutic Effects of Cold-Pressed Perilla Oil Mainly Consisting of Linolenic acid, Oleic Acid and Linoleic Acid on UV-Induced Photoaging in NHDF Cells and SKH-1 Hairless Mice. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 989, 22 fev. 2020.

CSEKES, Erika; RAČKOVÁ, Lucia. Skin Aging, Cellular Senescence and Natural Polyphenols. **International Journal of Molecular Sciences**, [*s. l.*], v. 22, n. 23, p. 01-51, 2021.

DINI, I.; LANERI, S. Nutricosmetics: A brief overview. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 12, p. 3054–3063, 3 set. 2019.

ELLIS, David; KHAVKIN, Jeannie. Aging skin: histology, physiology, and pathology. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, [*s. l.*], v. 19, n. 02, p. 229-234, 2011.

FILHO, J. T. DE S. et al. Alterações histopatológicas em girinos de rã-touro alimentados com rações comerciais de diferentes níveis protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 12, p. 2085–2089, dez. 2008.

FERREIRA, M. U. Lacunas na área de pesquisa e desafios para o controle da malária no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, n. 12, p. 2284–2286, dez. 2011.

FREIRE, P. C. M.; MANCINI-FILHO, J.; FERREIRA, T. A. P. DE C. Principais alterações físico-químicas em óleos e gorduras submetidos ao processo de fritura por imersão: regulamentação e efeitos na saúde. **Revista de Nutrição**, v. 26, n. 3, p. 353–358, 1 jun. 2013.

FOGLIANO, V. et al. Method for Measuring Antioxidant Activity and Its Application to Monitoring the Antioxidant Capacity of Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 3, p. 1035–1040, mar. 1999.

GONÇALVES, R.; NAGATA, N.; PERALTA-ZAMORA, P. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO BASEADO EM QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO DE CONSERVANTES EM COSMÉTICOS POR HPLC-DAD. **Química Nova**, 2020.

HSDB. Hazardous Substances Data Bank : 5281 - N,N DIETIL-P- FENILENODIAMINA. Disponíve l em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/5281>.

HUANG, T.-H. et al. Cosmetic and Therapeutic Applications of Fish Oil's Fatty Acids on the Skin. **Marine Drugs**, v. 16, n. 8, p. 256, 30 jul. 2018.

HAYASHI, C. et al. Desenvolvimento de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw, 1802) cultivados em diferentes densidades de estocagem em tanques- rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 14–20, 1 fev. 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos** - 4ª Edição. Edição Digital. [s.l: s.n.]. Disponível em:<http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealime ntosial_2008.pdf>.

JIANG, S. J.; ZHOU, X. J. Examination of the mechanism of oleic acid-induced percutaneous penetration enhancement: an ultrastructural study. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 1, p. 66–68, 1 jan. 2003.

KATZER, T. et al. Physiopathology and current tratments of androgenetic alopecia: Going beyond androgens and anti-androgens. **Dermatologic Therapy**, v. 32, n. 5, p. e13059, 2019.

KRUTMANN, Jean *et al*. Environmentally-Induced (Extrinsic) Skin Aging: Exposomal Factors and Underlying Mechanisms. **Journal of Investigative Dermatology**, Alemanha, v. 141, ed. 4, p. 1096-1103, 2021.

LI, X. et al. Efficacy and safety of a topical moisturizer containing linoleic acid and ceramide for mild-to-moderate psoriasis vulgaris: A multicenter randomized controlled trial. v. 33, n. 6, 14 set. 2020
LOPES, V. S. et al. Obtenção de um Tensoativo Aniônico a Partir de Óleo de Rana catesbeiana Shaw. **Rev Ser Cienc Vida**, v. 30, n. 2, p. 85-97, 2010.

MACHADO, L.A *et al.* Bullfrog oil (Rana catesbeiana Shaw) induces apoptosis, in A2058 human melanoma cells by mitochondrial dysfunction triggered by oxidative stress. **Biomed Pharmacother**, v. 117, 2019.

MACHADO, L. A. **Avaliação das potencialidades terapêuticas do óleo de rã-touro (*Rana catesbeiana Shaw*) e de diferentes sistemas nanoestruturados desenvolvidos a base de óleo de rã-touro.** 2019. 200 f. Tese (Doutorado em Ciênciasda Saúde) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal- RN, 2019.

MAKPOL, S. et al. Comparative Effects of Biodynes, Tocotrienol-Rich Fraction, and Tocopherol in Enhancing Collagen Synthesis and Inhibiting Collagen Degradation in Stress-Induced Premature Senescence Model of Human Diploid Fibroblasts. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, p. 1–8, 2013.

MÉNDEZ, E. et al. Fatty acid composition, extraction, fractionation, and stabilization of bullfrog (Rana catesbeiana) oil. JAOCS, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1998.

MIOT, L. D. B. et al. Fisiopatologia do melasma. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 6, p. 623–635, dez. 2009.

NGUYEN, Thi Hoang Duong; COLLINS, Kathleen; NOGALES, Eva. Telomerase structures and regulation: shedding light on the chromosome end. **Current Opinion in Structural Biology**, [*s. l.*], v. 55, n. 01, p. 185-193, 2019.

PANDEY, A; JATANA, G.K; SONTHALIA, S. Cosmeceuticals. **Stat Pearls**, Flórida, 2022. Disponível em :< https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544223/> Acesso em: 15 de março de 2023.

PAWAR, V.D *et al.* Nanocosmeceuticals: facets and aspects. **Future science**, Índia, v.6, n. 10, 2020.

PERCÁRIO, S. et al. Oxidative Stress in Parkinson's Disease: Potential Benefits of Antioxidant Supplementation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1–23, 12 out. 2020.

PEREIRA, Alice Regina Alves *et al*. DESENVOLVIMENTO DE UM SÉRUM DE ALECRIM (ROSMARINUS OFFICINALIS L.) E PRÓPOLIS PARA O TRATAMENTO DA ACNE VULGAR. **Revista Científica FACS**, [*s. l.*], v. 22, n. 01, p. 18-27, 2022.

PERINA, Henrique Alipio. **Extração e caracterização de óleo de vísceras de rã-touro** (*Rana catesbeiana*), 26 fev. 2016.

PIZZINO, G. et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, n. 8416763, p. 1–13, 27 jul. 2017.

RUTCKEVISKI, R. *et al.* Thermo-Oxidative Stability Evaluation of Bullfrog (Rana catesbeiana Shaw) Oil. **Molecules**, Suíça, v. 22, n.4 p. 606, 2017.

SAHASRABUDHE, S. N. et al. Density, viscosity, and surface tension of five vegetable oils at elevated temperatures: **Measurement and modeling. International Journal of Food Properties**, p. 1–17, 29 dez. 2017.

SANTOS, A. DE O.; BARROS, F. P. C. DE; DELDUQUE, M. C. A pesquisa em saúde no Brasil: desafios a enfrentar. **Saúde em Debate**, v. 43, n. spe5, p. 126–136, 2019.

SANTOS, R. V. DOS et al. AVALIAÇÃO DO RADICAL N,N-DIETIL-1,4- FENILENODIAMINO (DEPD•+) COMO SONDA ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM BEBIDAS. **Química Nova**, v. 38, p. 948–956, 1 ago. 2015.

SASIDHARAN, Shan; JOSEPH, Pyarry. Formulation and evaluation of fairness serum using polyherbal extracts. **International Journal of Pharmacy**, [*s. l.*], v. 04, n. 03, p. 105-112, 2014.

SHANBHAG, SHREYA *et al*. Anti-aging and Sunscreens: Paradigm Shift in Cosmetics. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, Índia, v. 9, ed. 3, p. 348-359, 2019.

SILVA, Fábio Vinícius Ferreira et al. Desenvolvimento e controle de qualidade de um gel-creme antiacneico a base do óleo da Copaífera officinalis L.(copaíba). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 30, p. e974-e974, 2019.

SILVA, L. P. et al. Effect of bullfrog (Rana catesbeiana) oil administered by gavage on the fatty acid composition and oxidative stress of mouse liver. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 10, p. 1491– 1496, 1 out. 2004.

SILVA, C. R. et al. Caracterização físico-química e dielétrica de óleos biodegradáveis para transformadores elétricos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, p. 229–234, 1 fev. 2012.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94–103, fev. 1999.

SWAIN, S. *et al*. Quality by Design: Concept to Applications. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 16, n. 3, p. 240–250, 14 out. 2019

VIEIRA, Patrícia Brum *et al*. Caatinga plants: Natural and semi-synthetic compounds potentially active against Trichomonas vaginalis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 9, p. 2229–2236, 1 maio 2016.

YU, L. X. *et al*. Understanding Pharmaceutical Quality by Design. **The AAPS Journal**, v. 16, n. 4, p. 771–783, 23 maio 2014.

ZAFFARIN, A. S. et al. Pharmacology and Pharmacokinetics of Vitamin E: Nanoformulations to Enhance Bioavailability. International Journal of Nanomedicine, v. Volume 15, p. 9961–9974, dez. 2020.

ZHANG, Shoubing; DUAN, Enkui. Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside. **Sage Journals**: Transplante de Células, China, v. 27, ed. 5,
p. 729-738, 2018.