



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**BRUNO DE ALMEIDA ANDRADE**

**ATIVIDADE FOTOPROTETORA *in vitro* DE ESPÉCIES MEDICINAIS  
DA CAATINGA PERNAMBUCANA E INCORPORAÇÃO EM GEL  
DERMATOLÓGICO**

**RECIFE / 2015**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**BRUNO DE ALMEIDA ANDRADE**

**ATIVIDADE FOTOPROTETORA *in vitro* DE ESPÉCIES MEDICINAIS  
DA CAATINGA PERNAMBUCANA E INCORPORAÇÃO EM GEL  
DERMATOLÓGICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim (Orientadora)**  
**Dr. Tadeu José da Silva Peixoto Sobrinho (Co-Orientador)**

**RECIFE / 2015**



BRUNO DE ALMEIDA ANDRADE

**Atividade Fotoprotetora *in vitro* de Espécies Medicinais da Caatinga Pernambucana e Incorporação em Gel Dermatológico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 26/02/2015.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim (Presidente e Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Karina Perrelli Randau (Examinadora Externa)  
Universidade Federal de Pernambuco

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**REITOR**

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**VICE-REITOR**

Sílvia Romero de Barros Marques

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISAS E PÓS-GRADUAÇÃO**

Francisco de Sousa Ramos

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Nicodemos Teles de Pontes Filho

**VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Vânia Pinheiro Ramos

**CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Antônio Rodolfo de Faria

**VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**

**FARMACÊUTICAS**

Almir Gonçalves Wanderley

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**

**FARMACÊUTICAS**

Ana Cristina Lima Leite

Este trabalho é dedicado à *Ana Elizabete Cruz de Almeida Andrade, Severino Juvencio de Andrade Filho e Ana Clarissa Luna Gomes* pelo apoio incondicional em todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe, *Ana Elizabete Cruz de Almeida Andrade*, pelo apoio nos momentos difíceis, educação, amor e companheirismo. Esse objetivo conquistado por mim também é seu!

Ao meu pai, *Severino Juvencio de Andrade Filho*, por todo o esforço para que estivesse nesse patamar, amor, carinho, dedicação. Esse objetivo conquistado por mim também é seu!

À minha noiva *Ana Clarissa Luna Gomes*, pelo companheirismo, amor e carinho.

À toda minha família, em especial *Marcos Arruda, Paulo Arruda, Socorro Arruda, Mônica Sueli, Ivson Bandeira, Antonieta Mendes, Edna Gomes, Lourival Gomes*, por tudo que fizeram por mim.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> *Elba Lúcia Cavalcanti* por todo o apoio, amizade e aprendizado compartilhado desde a monitoria até a elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório de Produtos Naturais (LAPRONAT), *Allan Chernichiarro, Valerium Thijan, Thiago Araújo, Tadeu Peixoto, Sarah Raquel, Daniela Cabral, Patrícia Neri, Elvis Alves, Jenifer, Emanuelly, Luana, Ana Klarissa e Pedro* por todo o apoio e confiança depositada em mim

Aos meus amigos, *Leonardo Coelho, Hugo Santiago, Vanessa Albuquerque, Diego Siqueira, Alex Lopes, Raphael Matos, Larissa Fajardo, Erick Ramos, Roberto Ramalho* pelo apoio, companheirismo e confiança depositada em mim.

Aos meus amigos da turma "princípios ativos", em especial *Danilo Fontes, Larissa Rolim, Pablo Ataíde, Luíse Lopes, Sarah Raquel, Otávio Rosa, Iggor Macêdo, Januária Lima*.

À Universidade Federal de Pernambuco, em especial ao Programa de Ciências Farmacêuticas e todas as pessoas que o compõem.

Ao Laboratório de Tecnologia de Medicamentos (LTM), Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosméticos (NUDFAC) e Farmácia Escola Carlos Drummond de Andrade da Universidade Federal de Pernambuco pelo apoio.

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro concedido.

À *Alexandre* e a comunidade do Carão pelo auxílio na coleta das plantas.

E a todos que contribuíram de forma direta ou indireta nessa conquista.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Capacidade de penetração da radiação ultravioleta na pele humana	17
<b>Figura 2</b> - Efeitos das Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) na célula	19
<b>Figura 3</b> - Relação entre o tamanho das partículas e fotoproteção pelos filtros físicos	22
<b>Figura 4</b> - Estudo preliminar de centrífuga. (A) Momento anterior ao teste, (B) Momento posterior	57

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Valores do FPS-UVB na concentração de 100 mg/mL das espécies estudadas 51
- Gráfico 2** - Absorbâncias de *Erythrina velutina* nas concentrações de 5, 25, 50 e 100 mg/mL 53
- Gráfico 3** - Comportamento reológico do produto antes do estudo de estabilidade (A) e após estudo de estabilidade (B) 56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Plantas utilizadas para tratar processos inflamatórios no município de Altinho/PE	34
<b>Tabela 2</b> - Teores (mg/g) de fenois totais, taninos, flavonoides e cumarinas expressos em média $\pm$ desvio padrão das espécies estudadas	44
<b>Tabela 3</b> - Valores da CE <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL) e do FPS nas concentrações de 5, 25, 50 e 100 mg/mL expressos em média $\pm$ desvio padrão	48
<b>Tabela 4</b> - Especificações iniciais do gel dermatológico das cascas de <i>Erythrina velutina</i> 2%	54
<b>Tabela 5</b> - Especificações do gel dermatológico das cascas de <i>Erythrina velutina</i> 2% após o ciclo gelo-degelo e durante a avaliação da estabilidade acelerada	59

## RESUMO

A exposição à radiação ultravioleta (UV) pode causar foto envelhecimento, lesões estéticas ou mais perigosas, como os carcinomas e/ou melanomas. Os filtros solares são substâncias capazes de absorver, refletir ou refratar a radiação ultravioleta e assim proteger a pele da exposição direta da luz. Uma tendência atual da indústria cosmética é a exploração racional da biodiversidade brasileira para o desenvolvimento de produtos com componentes de origem natural, especialmente a partir de plantas. Flavonoides, antocianinas e derivados do ácido cinâmico provavelmente são as substâncias presentes nas plantas responsáveis pela absorção na região do UV, devido as suas estruturas químicas. O presente trabalho teve como objetivo determinar o Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro*, a capacidade antioxidante e quantificar os teores de fenois totais, taninos, flavonoides e cumarinas, de quinze espécies da Caatinga, utilizadas na medicina popular como antiinflamatórias, incorporando em um gel dermatológico o extrato que apresentasse o melhor FPS. Amostras das espécies vegetais devidamente identificadas foram secas, trituradas e submetidas à extração hidroetanólica (80:20). Análises espectrofotométricas foram realizadas para determinação do FPS, atividade antioxidante e para o doseamento dos metabólitos secundários. O cálculo do FPS, *in vitro*, foi baseado no método desenvolvido por Mansur. A atividade antioxidante foi avaliada pela capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras captarem o radical livre DPPH. Os teores de fenois totais e residuais, flavonoides e cumarinas foram obtidos pelos métodos de Folin-Ciocalteu, cloreto de alumínio e acetato de chumbo, respectivamente. Os ácidos carboxivinílicos (Carbopóis®) foram a matéria-prima utilizada na preparação de géis. Após a incorporação do extrato bruto, a formulação foi avaliada quanto às propriedades organolépticas, físico-químicas e estabilidade. A espécie *Schinopsis brasiliensis* (Baraúna) obteve o maior conteúdo de compostos fenólicos. Em relação aos taninos *Anacardium occidentale* (Caju Roxo) apresentou o melhor resultado. No doseamento de flavonoides e cumarinas as espécies que se destacaram foram *Erythrina velutina* (Mulungu) e *Amburana cearensis* (Imburana açú). Quanto à capacidade de captura do radical livre DPPH, a espécie que mostrou melhor atividade foi *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira) com uma concentração eficiente de 10,39 µg/mL, sendo melhor que a concentração apresentada pelo ácido ascórbico. Em relação ao FPS, a espécie que obteve melhor resultado foi *Erythrina velutina* (Mulungu) com um valor de  $9,708 \pm 1,29$  na concentração de 100 mg/L, sendo a espécie selecionada para incorporação no gel. Na avaliação de estabilidade preliminar, não houve alteração nos parâmetros avaliados porém, após 30 dias, observou-se alterações na cor e odor da formulação quando submetida a temperatura elevada. Este estudo apresentou informações sobre plantas da Caatinga e sua utilização em preparações farmacêuticas fotoprotetoras, sendo necessário a realização de estudos futuros visando a melhoria do processo de extração e desenvolvimento farmacotécnico das formulações com esta finalidade.

**Palavras chave:** Caatinga. Flavonoides. Fator de Proteção Solar (FPS).

## ABSTRACT

Exposure to ultraviolet radiation (UV) can cause photoaging, esthetic lesions or more hazardous as carcinomas and/or melanomas. Sunscreens are substances that can absorb, reflect or refract ultraviolet radiation and thus protect the skin from direct light exposure. A current trend in the cosmetic industry is the rational exploitation of Brazilian biodiversity for the development of products with components of natural origin, especially from plants. Flavonoids, anthocyanins and cinnamic acid derivatives are probably the substances in plants responsible for absorption in the UV region due to their chemical structures. This study aimed to determine the Sun Protection Factor (SPF) *in vitro*, antioxidant activity and quantify the total phenolic, tannins, flavonoids and coumarins content, the fifteen species of Caatinga, used in folk medicine as anti-inflammatory, incorporating in a dermatological gel extract to produce the best SPF. Samples of appropriately identified plant species were dried, crushed and subjected to extraction hydroethanol (80:20). Spectrophotometric analyzes were performed to determine the SPF, antioxidant activity and secondary metabolites. The SPF *in vitro* was based on the method developed by Mansur. The antioxidant activity was evaluated by the ability of antioxidants present in the samples capture the free radical DPPH. The total phenolic and residual, flavonoids and coumarins content were obtained by the Folin-Ciocalteu method, aluminum chloride and lead acetate, respectively. The carbomers (Carbopóis®) the raw materials were used in preparing gels. After the merger of the crude extract, the formulation was evaluated over the organoleptic properties, physicochemical and stability. The *Schinopsis brasiliensis* species (Baraúna) had the highest content of phenolic compounds. In relation to tannins *Anacardium occidentale* (Caju Roxo) showed the best results. When dosing flavonoids and coumarins species that stood out were *Erythrina velutina* (Mulungu) and *Amburana cearensis* (Imburana Açú). Regarding free radical capture capability DPPH, the species that showed highest activity was *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira) with an effective concentration of 10.39 mg/mL, better than the concentration shown by ascorbic acid. Regarding the SPF, the species that best results were obtained *Erythrina velutina* (Mulungu) with a value of  $9.708 \pm 1.29$  at the concentration of 100 mg/L, and the species selected for incorporation into the gel. In the evaluation of preliminary stability, there was no change in the evaluated parameters however, after 30<sup>th</sup> day, there was a change in the color and odor of the formulation when subjected to high temperature. This study has information about plants Caatinga and its use in photoprotective pharmaceutical preparations, being necessary to conduct future studies aimed at improving the extraction process and pharmaceuticals development of formulations for this purpose.

**Keywords:** Caatinga. Flavonoids. Sun Protection Factor (SPF).

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	13
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b>	16
2.1 Radiação Ultravioleta (UV) e danos à pele	16
2.2 Fotoproteção e Fator de Proteção Solar (FPS)	20
2.3 Metabólitos Secundários e Atividade Fotoprotetora	24
2.4 Formulações de Protetores Solares	27
<b>3 OBJETIVOS</b>	32
3.1 Objetivo Geral	32
3.2 Objetivos Específicos	32
<b>4 METODOLOGIA</b>	34
4.1 Área de estudo	34
4.2 Coleta do material vegetal	34
4.3 Preparação e caracterização química dos extratos	35
4.4 Determinação do conteúdo fenólico total	35
4.5 Determinação do conteúdo de taninos	36
4.6 Determinação do conteúdo de flavonoides	36
4.7 Determinação do conteúdo de cumarinas	37
4.8 Quantificação da atividade antioxidante	38
4.9 Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS)	38
4.10 Desenvolvimento de gel dermatológico	39
4.11 Determinação das especificações do produto acabado/Estabilidade Preliminar	40
4.12 Análise Estatística	41
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	43
5.1 Fitoquímica	43
5.2 Atividade Antioxidante e Fotoprotetora	47
5.3 Desenvolvimento Farmacotécnico e Especificações do Produto Acabado	54
5.3.1 Propriedades Organolépticas e Físico-químicas	54
5.3.2 Estudo Reológico da Formulação	56
5.3.3 Avaliação da Estabilidade	57
<b>6 CONCLUSÃO</b>	61
<b>REFERÊNCIAS</b>	62

# 1. INTRODUÇÃO

## 1. INTRODUÇÃO

Aproximadamente 40% do planeta é constituído por florestas tropicais e subtropicais, onde 42% destas constituem as florestas secas, incluindo-se a caatinga (MOREIRA et al., 2006). A caatinga é um bioma que abrange cerca de 900 mil Km<sup>2</sup>, correspondendo quase 54% da região Nordeste e 11% do território brasileiro. Situada entre os paralelos de 2° 54' S a 17° 21' S, envolve áreas dos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, o sudoeste do Piauí, partes do interior da Bahia e do norte de Minas Gerais (ANDRADE et al., 2005). Somente nas últimas três décadas é que ela vem sendo estudada, constatando-se sua relevância a partir do conhecimento da sua alta diversidade além de suas potencialidades terapêuticas (TROVÃO et al., 2004).

As radiações solares necessárias para diversos processos biológicos no ser humano, plantas e animais, também podem causar sérios danos à pele humana, aliado a frequência e tempo de exposição, além de outros fatores como intensidade das radiações baseadas na latitude e sensibilidade do indivíduo (MUNHOZ et al., 2012). Tais danos da radiação solar são causados, na sua maioria, pela região do ultravioleta (UV) do espectro eletromagnético, sendo os tipos UVA (320-400 nm) e UVB (290-320 nm) responsáveis por causar danos como queimaduras, eritemas, edemas, envelhecimento precoce da pele e sendo implicados, atualmente, como um fator causador de câncer de pele (DUTRA et al., 2004).

Uma tendência atual da indústria cosmética é a exploração racional da biodiversidade brasileira para o desenvolvimento de produtos com componentes de origem natural, especialmente a partir de plantas (BIAVATTI et al., 2007; IHA et al., 2008). Na cosmetologia, diversos insumos vegetais têm sido empregados na produção de filtros solares devido à sua ação fotoprotetora, isto porque há uma analogia estrutural entre os filtros solares sintéticos e os naturais (RAMOS et al., 1996; VIOLANTE et al., 2009). Dessa forma, o uso de produtos de biossíntese vegetal, para fotoproteção tópica ou pela ingestão na dieta constitui-se alvo importante na farmacologia atual (PEREIRA; CARDOSO 2012).

A atividade biológica de um protetor solar é avaliada por sua habilidade em proteger a pele de eritemas e edemas, reduzir o risco de queimaduras e o risco de carcinoma de células da camada basal e espinhosa (TOYOSHIMA et al., 2004). Alguns autores enfatizam que além de serem utilizados como protetor solar, os extratos vegetais podem apresentar atividades terapêuticas como antiinflamatória e antioxidante, combatendo assim alguns dos danos causados pela radiação solar. Flavonoides, antocianinas e derivados do ácido cinâmico

absorvem na região do UV, sugerindo a hipótese de absorção desta radiação em filtros a base de extratos vegetais (RAMOS et. al., 2010).

Várias espécies de plantas nativas da caatinga apresentam elevadas concentrações de compostos fenólicos, tais como os flavonoides, cujo espectro de absorção ocorre com dois picos máximos, um entre 240-280 nm e outro a 300-550 nm. Assim, há a possibilidade do uso dessas espécies vegetais para o desenvolvimento de filtros solares em preparações fotoprotetoras, já que em sua composição predominam tais compostos (BOBIN et al., 1995).

Devido a variedade de formulações existentes com finalidade fotoprotetora, aliado ao crescente uso clínico de extratos vegetais nestas preparações, há a necessidade de desenvolvimento farmacotécnico de formulações adequadas para área de fitocosméticos. A partir desta demanda, o desenvolvimento farmacotécnico e principalmente avaliação da estabilidade das formulações tornam-se igualmente importantes para a obtenção de produtos estáveis e que garantam a eficácia e segurança, critérios primordiais de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

A revisão de literatura busca fornecer uma fundamentação teórica dos conhecimentos relacionados ao título do trabalho, baseada em literatura científica relevante.

### **2.1 Radiação Ultravioleta (UV) e danos à pele**

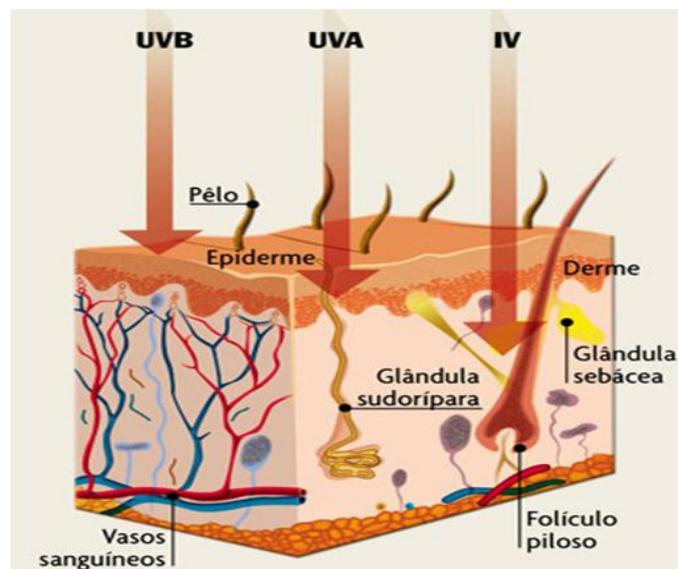
As radiações solares necessárias para diversos processos biológicos no ser humano, plantas e animais, também podem causar sérios danos à pele humana, aliado a frequência e tempo de exposição, além de outros fatores como intensidade das radiações baseadas na latitude e sensibilidade do indivíduo (MUNHOZ et al. 2012). Tais danos da radiação solar são causados, na sua maioria, pela região do ultravioleta (UV) do espectro eletromagnético, sendo responsáveis por causar danos como queimaduras, eritemas, edemas, envelhecimento precoce da pele e sendo implicados, atualmente, como um fator causador de câncer de pele (DUTRA et al. 2004).

A radiação UV é uma faixa considerada não ionizante do espectro eletromagnético compreendida entre 100-400 nm sendo subdividida em três tipos, de acordo com a região do comprimento de onda, UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (100-290 nm) (NASCIMENTO et. al., 2009). Dos três tipos, a região do UVC de menor comprimento de onda e conseqüentemente de maior energia seria o tipo com maior potencial de causar danos mais graves à pele mas, além de apresentar a menor quantidade dentre todas as faixas na radiação UV é na sua totalidade retida pela camada de ozônio (SGARBI et. al., 2007).

A radiação UVA representa 95% da radiação UV que chega a superfície terrestre e é dividida em dois subtipos: UVA-1 (340-400 nm) e UVA-2 (320-340 nm), sendo esta última a com maior efeito eritemogênico. Os efeitos agudos da radiação UVA estão relacionados com o bronzeamento imediato da pele e seu poder na formação de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO). Porém, uma exposição prolongada e cumulativa desta radiação ocasiona processos nocivos à pele como fotoenvelhecimento precoce afetando na elasticidade do tecido, aumento de células inflamatórias, redução das células de Langerhans, tais danos estão relacionados com sua alta capacidade de penetrar em regiões mais profundas da epiderme e uma pequena parte no tecido subcutâneo (BALOGH et. al., 2011; POLONINI et. al., 2011).

Os 5% de radiação UV que atravessam a camada de ozônio correspondem ao tipo UVB apresentando maior energia entre os três tipos e um comprimento de onda intermediário

(SOUZA et. al., 2004; POLONINI et. al., 2011; AFAQ, 2011). Apesar de apresentar uma capacidade de penetração na pele menor quando comparado a radiação UVA (Figura 1) , o UVB é mais eficiente em proporcionar danos diretos ao DNA participando de duas das três etapas da malignização carcinogênica. Outros danos agudos associados a este tipo de radiação são queimaduras, eritema, bronzeamento tardio, foto-imunossupressão e espessamento do estrato córneo (SOUZA et. al., 2004; ROSA et. al., 2008; FIGUEIREDO et. al., 2014).



**Figura 1** - Capacidade de penetração da radiação ultravioleta na pele humana.  
Fonte: Leger (2015).

Na pele, muitas moléculas são capazes de absorver a radiação UV como a melanina, proteínas, lipídeos aminoácidos aromáticos (GONZÁLEZ et. al., 2008), ocasionando alterações em sua estrutura química, além de promover outros tipos de reações como a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) (BALOGH et. al., 2011).

O DNA é uma das moléculas capazes de absorver a radiação UV e sofrer alterações em sua estrutura, desde a formação de dímeros até rompimento da dupla hélice promovendo o bloqueio da replicação e transcrição. Danos como estes ocorrem inúmeras vezes ao longo do dia porém, fisiologicamente, nosso organismo possui um sistema eficiente capaz de realizar reparos podendo a célula retornar a sua função normal ou sofrer um processo de apoptose (morte celular não seguida de autólise). A exposição excessiva a radiação solar com uma ação cumulativa de radiação UV pode provocar a diminuição da eficiência do nosso sistema de

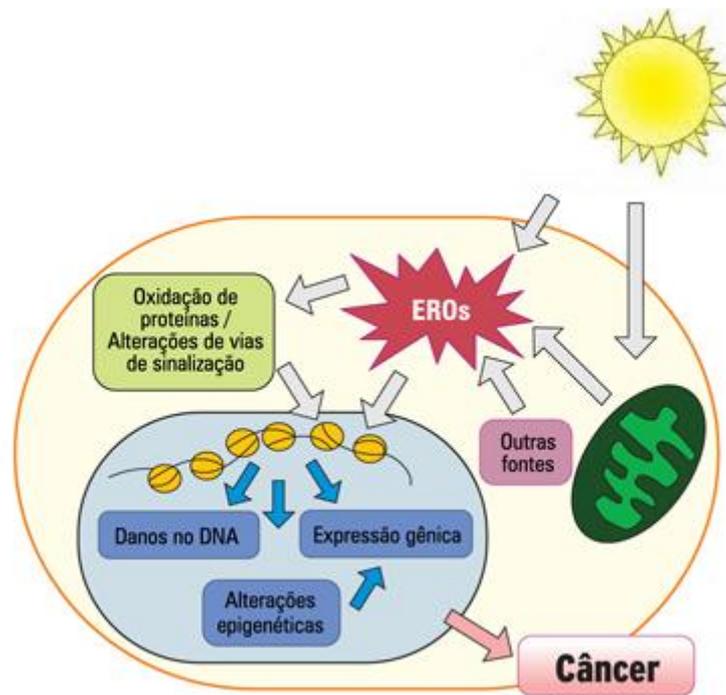
reparação levando a um processo de divisão celular com material genético alterado (SGARBI et. al., 2007). Alguns pesquisadores acreditam que o gene supressor p53, encontrado com frequência mutado em neoplasias na pele, é o ponto de partida para formação destas neoplasias (RIGEL, 2008).

Atualmente no Brasil, as estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA), mostram o câncer de pele como o primeiro dentre todos os tipos de cânceres e apresenta tendência de aumento no número de novos casos em todo o território nacional. O câncer de pele tem distribuição universal e costuma apresentar-se sob três principais formas: melanoma, carcinoma basocelular e carcinoma espinocelular (ou epidermoide), sendo estes dois últimos denominados de câncer de pele não melanoma (INCA, 2014).

Segundo os dados epidemiológicos do INCA o tipo não melanoma é considerado de baixa letalidade; todavia, em alguns casos em que há demora no diagnóstico, pode apresentar algumas complicações como ulcerações e deformidades físicas graves. Houve um aumento considerável na estimativa de novos casos do câncer de pele não melanoma no Brasil em 2014, sendo de 98.420 entre homens e 83.710 nas mulheres. Com esses valores a um risco estimado de 100 e 82 casos novos a cada 100 mil homens e mulheres, respectivamente. Já o câncer do tipo melanoma apresenta uma letalidade elevada, porém sua incidência é baixa com 2.960 casos novos em homens e 2.930 em mulheres (INCA, 2014).

Muitas teorias, sobre o mecanismo de hiperplasia dérmica induzida pelas radiações UV, têm sido propostas. Estudos recentes mostram que a ativação, induzida pela radiação UV, do receptor do fator de crescimento epidérmico acarreta no aumento da proliferação dos queratinócitos e suprime a apoptose, promovendo uma hiperplasia epidérmica. Com isso, faz-se necessário a busca de novos agentes capazes de reduzir o grau de hiperplasias da epiderme e da inflamação induzida pela exposição a radiação solar (BOLFA et. al., 2013), sendo os produtos de origem natural bons aliados nesse processo.

Durante muitos anos acreditava-se que apenas a radiação UVB era responsável pelo processo de carcinogênese porém, estudos demonstram que tanto a radiação UVA quanto a UVB, atuam, de maneira isolada ou sinérgica, potencializando o processo carcinogênico (POLONINI et. al., 2012). A molécula de DNA pode sofrer tanto danos diretos, induzidos pelo radiação UVB, quanto danos oxidativos, induzidos pelos dois tipos de radiação UV.



**Figura 2** - Efeitos das Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) na célula.  
 Fonte: Ciência e Cultura, Silva e Jasiulionis (2014).

Os danos diretos implicam em erro na incorporação de bases durante o processo de replicação, além de danos hidrolíticos que promovem desaminação de bases púricas e pirimidínicas, levando a formação de dímeros destas bases chamados de fotoprodutos. Já os danos oxidativos estão relacionados com a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO).

A ação cumulativa das radiações UV, principalmente a UVA, acarreta em aumento das concentrações de ERO que podem modificar a estrutura de diversas moléculas como proteínas, lipídeos, além do DNA onde a desorganização de bases e até mesmo do esqueleto da desoxirribose levam à inibição das funções normais da célula (Figura 2) (RASTOGI et. al., 2010). O estudo realizado por Barg e colaboradores (2014) mostrou a ocorrência de danos ao DNA em sangue periférico e danos oxidativos na pele de ratos expostos à radiação. Com isso torna-se de extrema importância o desenvolvimento de produtos capazes de inibir a formação e/ou ação de ERO.

## 2.2 Fotoproteção e Fator de Proteção Solar (FPS)

Buscando diminuir os já conhecidos danos causados pela radiação UV, a pele possui um sistema de proteção que vai da apoptose das células à mecanismos modulatórios da geração de radicais livres como a expressão gênica de antioxidantes (MELNIKOVA; ANANTHASWAMY, 2005). Porém, essa proteção isoladamente muitas vezes é insuficiente, sendo necessário a utilização de outros agentes para obtenção de um mecanismo de proteção mais eficaz.

Dentre os agentes estão os fotoprotetores ambientais como o ozônio (O<sub>3</sub>) que influenciam na intensidade de radiação UV na superfície terrestre, os fotoprotetores por vestimentas e acessórios que proporcionam uma proteção física da pele e são avaliados de acordo com o fator de proteção ultravioleta (FPU), sendo semelhante ao Fator de Proteção Solar (FPS) (BALOGH et. al., 2011).

Com o objetivo de melhorar a eficácia da proteção cutânea foram desenvolvidos produtos para aplicação exógena contendo substâncias capazes de auxiliar os mecanismos de proteção da pele, denominada fotoquimioproteção, e/ou de diminuir a penetração da radiação UV na pele, denominada de protetor solar.

Os protetores ou filtros solares são substâncias capazes de absorver, refletir ou refratar a radiação ultravioleta e assim proteger a pele da exposição direta da luz solar (RIBEIRO et. al., 2004; GIOKAS et al., 2005).

Atualmente, existem 17 compostos fotoprotetores ativos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA), já na Austrália esse número dobra sendo de 34 compostos. A União Européia também possui mais compostos aprovados sendo um quantitativo de 28 compostos ativos aprovados. O quantitativo inferior nos Estados Unidos se deve pelo fato de que os protetores solares são produtos isentos de receituário, os chamados "over-the-counter drugs", fazendo com que se tenha um maior número de teste e um maior rigor na aprovação destes produtos por parte da FDA (DYVIA et. al., 2012).

No Brasil, a Resolução 30/12 da ANVISA e em acordo com os países do MERCOSUL disponibiliza uma lista dos filtros ultravioletas permitidos para comercialização em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Nesta lista estão presentes 38 substâncias, sendo 36 compostos orgânicos, a mesma apresenta as concentrações máximas permitidas em preparações farmacêuticas.

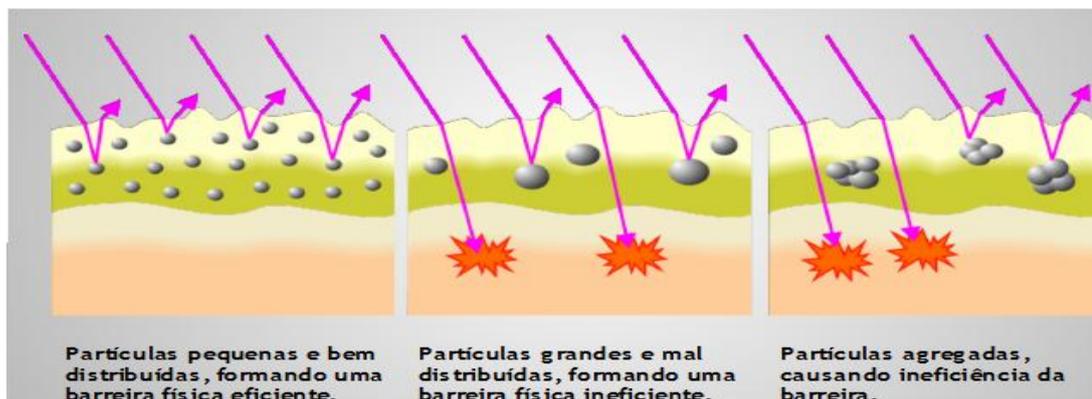
Os filtros solares são divididos em dois tipos: os orgânicos, também chamados de químicos, e os inorgânicos ou físicos. Para um filtro ser considerado químico não basta apenas a absorção da radiação UV, é necessário que ocorra uma reação química entre a molécula e a radiação pois, os processos de absorção e reflexão são meramente físicos (FLOR et al., 2007).

A ação dos filtros inorgânicos se aplica em um bloqueio estritamente físico por meio de uma barreira, muitas vezes opaca, de proteção refletindo ou dispersando a radiação. Atualmente, os mais utilizados na cosmetologia são o óxido de zinco (ZnO) e o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), sendo o primeiro com maior eficácia de proteção para a radiação UVA e o segundo um protetor mais eficiente para a radiação UVB (DIVYA et. al., 2012).

Tanto o óxido de zinco (ZnO) como o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) são substâncias semicondutoras possuindo transições entre bandas de valência e condução do sólido. Apesar de ser bastante utilizados na cosmetologia por crianças e indivíduos que possuem algum tipo de processo alérgico aos compostos orgânicos e de certa forma possuir segurança na sua utilização, estes compostos apresentam alguns problemas que vão desde o aspecto estético, coloração opaca esbranquiçada, não absorção do produto fazendo com que parte do mesmo fique retido nas vestimentas; a preparação das formulações, como o tamanho das partículas que são de grande importância na eficácia do produto (DIVYA et. al., 2012).

Com isso, a indústria vem buscando aprimorar estes produtos visando uma maior aceitação por parte da população, além de garantir uma maior proteção. Uma das alternativas é a diminuição do tamanho das partículas que além de melhorar a estética do produto aumentam a proteção devido a uma maior área de contato com a substância (Figura 3). Porém, a diminuição por se só não trás resultados satisfatórios, visto que partículas menores tendem a se agregar na formulação fazendo com que outras medidas sejam tomadas durante a obtenção do produto como o recobrimento das partículas com sílica (FLOR et al., 2007; MATSUI et. al., 2009).

Os filtros orgânicos se caracterizam por estruturas aromáticas, substituídas em *orto* ou *para*, ou conjugadas com um grupo carbonila, normalmente com um grupo doador de elétrons e outro receptor, podendo o mesmo composto ocorrer em diferentes conformações e consequentemente apresentar diferentes comportamentos de absorção nas formulações (GAGO-FERRERO et. al., 2012).



**Figura 3** - Relação entre o tamanho das partículas e fotoproteção pelos filtros físicos.  
 Fonte: Núcleo educacional de broglie, 2013.

A classificação destes compostos está relacionada com seu potencial de absorção, sendo designados como filtros orgânicos UVA, UVB ou de amplo espectro. Os filtros UVA incluem as benzofenonas e os derivados de dibenzilmetano, os UVB são os derivados do ácido para-aminobenzóico (PABA), cinamatos, benzimidazóis, salicilatos e derivados de benzilideno cânfora. Na sua maioria estes compostos são utilizados em associação nas preparações farmacotécnicas pois, em suas concentrações máximas permitidas não apresentam um fator de proteção elevado (SERPONE et. al., 2007; NASCIMENTO et. al., 2014).

Alguns problemas têm sido descritos com relação ao uso dos filtros orgânicos sendo o de maior relevância a fotoestabilidade dos mesmos com conseqüente diminuição no fator de proteção porém, técnicas, como a encapsulação, destes compostos tem sido empregadas afim de obter uma maior fotoestabilidade dos produtos. Outro problema de grande importância é a permeabilidade cutânea que muitos filtros orgânicos apresentam (NASCIMENTO et. al., 2014), além de que mesmo sendo bastante utilizados na terapêutica os filtros solares possuem ação exclusivamente fotoprotetora.

A fotoquimioproteção surge como uma alternativa na busca de aumentar a eficácia dos protetores solares e consiste na adição de produtos naturais isolados, normalmente de extratos vegetais, com atividade antioxidante e/ou anti-inflamatória, atuando sob os danos causados pela radiação UV. Além da incorporação, estes compostos podem ser utilizados em preparações farmacêuticas tópicas para aplicação anterior aos filtros solares (AFAQ, 2011), visto que o maior potencial fotoquimioprotetor se obtêm quando estes compostos são

absorvidos atingindo as camadas mais profundas da pele, onde os radicais livres formados na interação com a radiação UV promovem seus danos à pele.

Os compostos fenólicos, especialmente os taninos e flavonoides, se destacam como os principais grupos de antioxidante naturais, pois apresentam uma eficiente captação de radicais livres, além da capacidade de interromper as reações em cadeia, e isto se deve ao seu potencial de agir como doadores de hidrogênio (GAZZANI et al., 2008; HIGDON; FREI, 2003; DELAZAR et al., 2006).

A avaliação da atividade biológica de um protetor solar consiste na sua capacidade de proteção da pele contra eritemas e edemas, redução do risco de queimaduras e carcinoma de células da camada basal e espinhosa (TOYOSHIMA et al., 2004; VIOLANTE et. al., 2009), uma das formas mais utilizadas de se avaliar a eficácia dos protetores é a determinação do Fator de Proteção Solar (FPS).

A FDA, em 1978, propôs uma definição para o FPS onde seria uma relação matemática entre a Dose Eritematosa Mínima (DEM) da pele protegida, com o protetor aplicado na concentração de 2 mg/cm<sup>2</sup> a partir de uma incidência de radiação através de uma fonte de energia em quantidade e tipo pré-determinados, e a DEM da pele não protegida de acordo com a equação 1. Entende-se por DEM a dose mínima de energia capaz de produzir uma primeira vermelhidão perceptível na pele, com bordas bem definidas.

$$\text{FPS} = \frac{\text{DEM na pele protegida}}{\text{DEM na pele não protegida}}$$

**Equação 1** - Cálculo do Fator de Proteção Solar (FPS) segundo a Food and Drug Administration (FDA).

O FPS pode ser determinado por diferentes metodologias que vão de ensaios *in vitro* a testes *in vivo*, sendo que o primeiro apresenta algumas vantagens como a rapidez de metodologia, reprodutibilidade, menor custo, não exposição a riscos por parte de voluntários. Os ensaios *in vitro* são baseados em métodos espectrofotométricos de soluções diluídas com análises da transmitância ou absorbância das mesmas.

Nas análises por absorbância, o método desenvolvido por Mansur (1986) é um dos mais utilizados, pois mostrou ser rápido e eficaz além de apresentar boa correlação com os testes *in vivo* (NASCIMENTO et. al., 2009), tendo como desvantagem a não utilização deste

método em filtro solares físicos, pois os mesmos não são solúveis nos solventes utilizados no método. Como alternativa para obtenção do FPS deste tipo de filtro, a metodologia de transmitância difusa vem sendo utilizada (VELASCO et. al., 2011).

Os testes *in vivo* tiveram sua primeira proposta de monografia pelo o FDA, em 1978, com posterior monografia final em 1993 e atualmente está sendo estudado uma revisão metodológica nesta monografia. Além do FDA, a comunidade européia desenvolveu uma monografia própria em 1994, passando por uma revisão em 2003 em conjunto com associações japonesa, sul-africana e norte-americana (SCHALKA; REIS, 2011).

Tanto a metodologia do FDA como da comunidade européia tornaram-se referência para os demais países, inclusive para o Brasil, onde na RDC 30/12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) destaca que os produtos fotoprotetores devem obedecer uma das duas metodologias para determinação do FPS.

### **2.3 Metabólitos Secundários e Atividade Fotoprotetora**

O metabolismo, realizado pelos organismos vivos, é definido como o conjunto de reações químicas para sintetizar moléculas orgânicas complexas a partir de moléculas simples (GARCÍA; CARRIL, 2009). Tais estruturas complexas têm como finalidades o fornecimento de energia ao organismo, a garantia da continuidade do estado organizado e a reação biológica aos estímulos do meio ambiente.

Além do metabolismo primário, representado por reações para obtenção de moléculas necessárias ao funcionamento do organismo como carboidratos, lipídeos, aminoácidos, entre outros, as plantas apresentam um metabolismo secundário. Na sua maioria, os metabólitos secundários são estruturas complexas, de baixo peso molecular e se encontram em baixas quantidades, variando nos diversos grupos de plantas. Por um bom tempo, acreditava-se que os mesmos eram produtos da excreção vegetal, porém apresentam funções ecológicas específicas nas plantas levando ao interesse de muitos pesquisadores também devido as diversas propriedades farmacológicas que possuem. Representam grande importância na indústria farmacêutica, alimentar e agrônômica (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

A quantidade e o tipo de metabólito secundário vão variar nas plantas de acordo com uma série de fatores como sazonalidade, temperatura, nutrientes, disponibilidade hídrica e também pela incidência de radiação UV. A existência de uma correlação entre a intensidade

de radiação e a produção de compostos fenólicos já está bem definida, estudos apontam que o aumento na produção de alguns destes metabólitos fotoprotetores se deve ao controle por parte de enzimas da rota biossintética dos fenilpropanóides, podendo ter sua expressão gênica induzida pela luz solar. Outros compostos também apresentam aumento na proporção aliado a incidência e quantidade de radiação como os terpenóides, alcaloides e glicosídeos de apigenina e luteolina, (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

De acordo com Flor e colaboradores (2007), geralmente estruturas que contêm anéis aromáticos com substituinte doador de elétrons podem absorver a radiação UV, que ao absorvê-la excitam os elétrons das insaturações, os quais após retornarem para o estado fundamental, tendo em vista se tratar de um processo não permanente, liberam o excesso de energia absorvida em forma de calor. Dessa forma, há vários produtos naturais com estruturas contendo anéis aromáticos de outras classes de metabólitos secundários, como, por exemplo, propiofenonas, derivados do ácido cafeico, lignanas e flavonoides.

Os compostos fenólicos são substâncias facilmente encontradas na natureza tendo compostos de várias classes presentes em plantas (SVOBODOVÁ et. al., 2003; SILVA et. al., 2010). Os grupos de polifenóis que apresentam atividades como anti-inflamatória, imunomoduladora, além da capacidade de reparo do DNA são os mais promissores a serem explorados como agentes fotoquimiopreventivos ideais. Estudos recentes têm demonstrado que muitos compostos fenólicos como silimarina, proantocianidinas, delphinidina, entre outros apresentam um potencial fotoprotetor contra os danos causados pela radiação UV. Alguns estudos sugerem que os efeitos fotoprotetores e a atividade anti-fotocancerígena destes metabólitos estão relacionados com a inibição de mediadores inflamatórios induzidos por UVB (AFAQ ; KATIYAR, 2011).

Os flavonoides constituem uma classe com extensa diversidade estrutural, de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie humana (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004). Já foram identificadas mais de nove mil substâncias pertencentes a este grupo (MARTENS; MITHÖFER, 2005). São bastante conhecidos quanto às suas propriedades biológicas, sendo a eles atribuídas várias funções como proteção dos vegetais contra incidência de raios ultravioleta e visível, além de ação antioxidante e inibição de enzimas (MELLO; SANTOS, 2001).

Segundo Sthal e Sies (2007) os flavonoides consumidos na dieta são distribuídos em tecidos que sofrem exposição aos raios UV, com finalidade fotoprotetora. Em estudo conduzido pelos mesmos, pacientes voluntários apresentaram proteção contra eritema

induzido por radiação UV utilizando uma dieta de 12 semanas enriquecida de alguns flavonoides. Em ratos, uma dieta rica em genisteína, um tipo de isoflavona da soja, teve a capacidade de prevenir de forma eficiente a fotocarcinogênese (AFAQ; MUKHTAR, 2006). A aplicação tópica deste mesmo composto apresentou uma diminuição dos danos oxidativos causados pelo UV, tais como imunossupressão e inflamação (VICENTINI et. al., 2011).

A silimarina, composta por três flavonoides, possui uma grande capacidade para sequestrar radicais livres e de prevenção a oxidação das lipoproteínas. Além de sua habilidade sequestradora, a silimarina regula a quantidade intracelular de um antioxidante endógeno, a glutathiona na sua forma reduzida (GSH), que encontra-se diminuída na epiderme viável após a exposição à radiação UV (EL-SHITANY et. al., 2008). Em estudo realizado por Chen et. al. (2012) quando da aplicação tópica de silimarina houve uma diminuição de dímeros de pirimidina derivados da exposição do DNA à radiação solar, diminuição de tumores na pele de camundongos e inibição das chamadas "sunburn cells", tipo de células que aparecem na epiderme quando de uma alta exposição aos raios UVB apresentando morfologia apoptótica típica (CLAERHOUT et. al., 2006).

Outros compostos fenólicos também possuem uma capacidade de proteção contra os danos causados pela radiação solar, estudos mostram a viabilidade de extratos vegetais, que contêm em sua composição taninos, serem utilizados com ação fotoprotetora (VIOLANTE et. al., 2009). Além disto, através da precipitação com proteínas os taninos podem apresentar uma atividade benéfica auxiliando no processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações, através da formação de uma camada protetora sobre a pele ou mucosa danificada, ocorrendo, abaixo desta, o processo natural de cura. Estudos demonstraram que muitos taninos participam do processo de captação de radicais livres, os quais interceptam o oxigênio ativo formando radicais estáveis (MELLO; SANTOS, 2001).

Várias espécies de plantas nativas da caatinga apresentam elevadas concentrações de compostos fenólicos. Assim, há a possibilidade do uso dessas espécies vegetais para o desenvolvimento de filtros solares, já que em sua composição predominam tais compostos (BOBIN et al., 1995). Porém, faltam estudos tanto *in vitro* como *in vivo* para avaliação do potencial para atividade fotoprotetora de plantas deste bioma com a finalidade de fornecer informações úteis para o desenvolvimento de formas farmacêuticas estáveis e que garantam eficácia e segurança para o consumidor.

## 2.4. Formulações de Protetores Solares

No desenvolvimento de preparações com finalidade fotoprotetora algumas características do produto, além das já conhecidas como segurança e eficácia, devem ser analisadas antes da escolha da forma farmacêutica. Entre as características mais importantes estão o tipo de produto, parte do corpo que será utilizado, consumidor alvo, atividades adicionais inseridas ao produto (substâncias antioxidantes), aspecto (cor, odor) (SURMAN et al., 2009). Outras escolhas também se fazem necessárias como a solubilidade do filtro no veículo, tipo de pele e tempo de ação pretendido (CABRAL et al., 2011). Após a avaliação destes parâmetros torna-se mais simples a escolha da forma farmacêutica ideal para incorporação do filtro solar desejado.

As formas farmacêuticas fotoprotetoras podem ser classificadas quanto à solubilidade em veículos à base de água, à base de óleo, à base de água e óleo, à base de etanol/óleo ou quanto à consistência que apresentam em fluidos, viscosos e sólidos (SURMAN et al., 2009), sendo esta classificação considerada para fins didáticos visto que temos formas criadas a partir da junção de duas formas as vezes diferentes entre si.

As loções e cremes emulsionados são as formas mais utilizadas na preparação de fotoprotetores e considerados por alguns autores os melhores veículos para produtos com esta finalidade. Estas emulsões diferem quanto a viscosidade e são constituídos de uma parte lipofílica e outra hidrofílica, podendo ser obtido dois sistemas diferentes: O/A (óleo em água) ou A/O (água em óleo), o primeiro apresenta uma maior adequação para proteção da pele (FLOR et al., 2007).

Por possuir agentes emolientes e hidratantes, estas formas ajudam a diminuir ainda mais os danos causados pela radiação solar (CABRAL et al., 2011). Apesar de ser bastante utilizado, este tipo de veículo apresenta algumas desvantagens entre elas a instabilidade das preparações visto que possui moléculas não iguais quanto à solubilidade necessitando a utilização de substâncias que evitem a separação de fases. Quanto ao aspecto possuem caráter gorduroso não sendo confortável para o consumidor (FLOR et al., 2007).

A forma gel surge como opção na utilização dos protetores solares. Este veículo é um sistema semi-sólido sendo apresentado pela dispersão de moléculas em um meio líquido adquirindo consistência quando da adição de um agente gelificante. Esta forma, dentre outras vantagens, possui um menor nível de intoxicação podendo ser aplicada em diferentes locais

do corpo (CORDEIRO et al., 2013). Além disto, estudos apontam que pacientes em uso de formulações tópicas preferem que as mesmas apresentem boa aderência, boa espalhabilidade, rápida remoção não deixando resíduos na parte utilizada, características estas encontradas nos géis.

Os géis utilizados em preparações fotoprotetoras podem ser classificados em dois grupos, com características hidrofílicas ou lipofílicas. Os hidrofílicos são preparados a base de água ou álcool (etanol), sendo o último com maior capacidade fotoprotetora do que os aquosos porém, podem causar desidratação e ressecamento da pele. Os lipofílicos são preparados a base de emulsões (gel-creme) sendo estabilizadas por colóides hidrofílicos (CHORILLI, et al., 2006).

A escolha para incorporação de filtros solares a base de extratos vegetais em gel se deve entre outros motivos o fato de que os polímeros gelificantes hidrofílicos apresentam uma facilidade na formação de um filme, fazendo com que ocorra um aumento no tempo de contato entre o princípio ativo e a área de aplicação (BARRY, 2005). Esta propriedade é de grande importância quando da utilização em filtros solares, sendo esta forma indicada para peles oleosas e mistas, podendo veicular princípios ativos hidro e lipossolúveis.

As emulsões e géis são bastante utilizados com a finalidade fotoprotetora, porém outras formas podem ser usadas para veicular os filtros solares. Entre elas podemos destacar, atualmente, os spray que estão sendo cada vez mais utilizados como veículo para filtros solares. Como vantagens apresentam uma fácil e rápida aplicação de forma contínua e homogênea e quando da aplicação, por serem oleosos, produzem uma fina película na pele (CHORILLI, et al., 2006) porém, não acontecendo de forma uniforme pelo corpo diminuindo sua eficácia e proteção (PALM; O'DONOGHUE, 2007).

Devido à variedade de formulações existentes com finalidade fotoprotetora, aliado ao crescente uso clínico de extratos vegetais nestas preparações, há a necessidade de desenvolvimento farmacotécnico de formulações adequadas para área de fitocosméticos. A partir desta demanda, o desenvolvimento farmacotécnico e principalmente avaliação da estabilidade das formulações tornam-se igualmente importantes para a obtenção de produtos estáveis e que garantam a eficácia e segurança, critérios primordiais de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Os consumidores de produtos cosméticos e medicamentos em geral buscam produtos que satisfaçam suas necessidades e que sejam de boa qualidade e segurança. Produtos com qualidade inferior a desejada, do ponto de vista da estabilidade, além de causar insatisfação

nos consumidores podem levar riscos à saúde, pois ocorrendo degradação dos mesmos, substâncias com toxicidade elevada podem ser formadas ou apresentar doses consideradas subterapêuticas. Dessa maneira, a avaliação da estabilidade exerce papel fundamental no desenvolvimento farmacotécnico (MISHRA et al., 2012).

Esta avaliação de estabilidade vem contribuindo entre outros fatores para a orientação do desenvolvimento da formulação e do material de acondicionamento adequado, estimativa do prazo de validade, indicação sobre o comportamento das preparações e auxílio no monitoramento das propriedades organolépticas, físico-químicas e microbiológicas do produto, garantindo, desta maneira, confiabilidade e segurança das formulações (BRASIL, 2004).

A estabilidade de um produto cosmético pode ser influenciada por diferentes fatores sendo eles classificados em intrínsecos e extrínsecos. Os fatores intrínsecos estão relacionados com a natureza da formulação, principalmente, da interação de seus constituintes entre si e/ou do material de acondicionamento: incompatibilidades químicas e/ou físicas como pH, reações de hidrólise, oxidação-redução, precipitação, separação de fases, entre outras. Já os extrínsecos correlacionam-se com fatores externos à formulação como tempo, temperatura, umidade, luminosidade, oxigênio, microorganismos, entre outros (ISAAC et al., 2008).

Na observação destes fatores, diversos testes são realizados afim de se obter informações quanto da estabilidade dos produtos desenvolvidos em um curto período de tempo. Com isso, amostras devem ser armazenadas em condições extremas visando acelerar mudanças que podem ocorrer dentro do prazo de validade. Os ensaios de estabilidade seguem uma sequência de testes chamados de preliminares, acelerados e de prateleira (BRASIL, 2004). Apesar da diferença entre os ensaios, os mesmos possuem algo em comum: os estudos reológicos. Estes estudos adquiriram posição permanente nos testes de estabilidade, pois são importantes nos processos de fabricação, estocagem e aplicação dos produtos de uso tópico, promovendo interferência na utilização, adesão e aceitação destes por parte do consumidor (ISAAC, 2008).

Os fluidos podem ser classificados em dois grupos: newtonianos e não-newtonianos, o primeiro apresenta uma relação linear entre a taxa e a tensão de cisalhamento mantendo uma viscosidade constante independente da taxa de cisalhamento. Já os não-newtonianos não apresentam relação linear e são subdivididos em plásticos, quando necessitam de uma tensão finita/escoamento para que ocorra movimento das partículas; pseudoplásticos, quando hán

diminuição da viscosidade a partir do aumento da taxa de cisalhamento, e dilatantes, que ocorre aumento da viscosidade a partir do aumento da taxa (FERREIRA et al., 2005).

### **3. OBJETIVOS**

### 3. OBJETIVOS

Com a finalidade de aprofundamento dos estudos sobre o bioma Caatinga, o presente trabalho teve os seguintes objetivos.

#### 3.1. Objetivo Geral

Determinar a atividade fotoprotetora *in vitro* de espécies medicinais da Caatinga Pernambucana e incorporar em gel dermatológico para a veiculação do extrato vegetal com melhor atividade fotoprotetora.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- Coletar e processar as amostras das espécies para obtenção do extratos;
- Obter os extratos secos brutos hidroetanólicos das espécies estudadas;
- Quantificar espectrofotometricamente o teor de fenois totais, taninos, flavonoides e cumarinas das espécies estudadas;
- Analisar a capacidade antioxidante dos extratos brutos das espécies estudadas sobre a remoção de radicais livres induzidos por 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH);
- Avaliar a atividade fotoprotetora *in vitro* dos extratos das espécies estudadas;
- Incorporar em gel dermatológico para a veiculação do extrato vegetal com melhor atividade fotoprotetora;
- Realizar teste de estabilidade preliminar (propriedades organolépticas, pH, viscosidade, resistência a centrifugação, densidade, teste de gelo e degelo).

## **4. METODOLOGIA**

## 4. METODOLOGIA

Apresenta a descrição do critério de escolha das plantas como também os ensaios fitoquímicos e farmacotécnicos utilizados para a realização do trabalho.

### 4.1 Área de estudo

O estudo foi realizado em uma área de Caatinga do Estado de Pernambuco, na comunidade do Carão (08°35'13,5"S e 36°05'34,6"W), localizada na zona rural de Altinho, município do agreste central Pernambucano, distante 163,1 km do Recife, com uma área de 454,486 km<sup>2</sup> e clima semi-árido quente (ARAÚJO et al., 2008).

### 4.2 Coleta do material vegetal

As plantas para o estudo foram selecionadas a partir de um banco de dados, previamente realizado pelo Laboratório de Etnobotânica Aplicada - UFRPE. Todas as espécies foram indicadas, no mínimo 3 vezes, pela população local como usadas para tratar processos inflamatórios. As amostras das plantas estudadas foram coletadas em janeiro de 2014. As espécies, famílias e partes usadas estão listadas na Tabela 1.

**Tabela 1** - Plantas utilizadas para tratar processos inflamatórios no município de Altinho/PE.

Nome científico	Família	Nome popular	Parte usada
<i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C. Sm.	Fabaceae	Imburana açú	Casca
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Anacardiaceae	Caju roxo	Casca
<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	Mimosaceae	Angico	Casca
<i>Boerhavia diffusa</i> L.	Nyctaginaceae	Pega pinto	Raiz
<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart.	Caesalpinaceae	Jucá	Casca
<i>Cedrela odorata</i> L.	Meliaceae	Cedro	Casca
<i>Cereus jamacaru</i> DC.	Cactaceae	Mandacaru	Raiz
<i>Crateva tapia</i> L.	Capparaceae	Trapiá	Entrecasca
<i>Erythrina velutina</i> Willd.	Fabaceae	Mulungu	Entrecasca
<i>Maytenus rigida</i> Mart.	Celastraceae	Bom nome	Casca
<i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir.	Mimosaceae	Jurema lisa	Casca
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Anacardiaceae	Aroeira	Entrecasca
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Anacardiaceae	Baraúna	Casca
<i>Spondias tuberosa</i> Arruda	Anacardiaceae	Umbu	Casca
<i>Tabebuia impetiginosa</i> (Mart. ex DC.) Standl.	Bignoniaceae	Pau d'arco roxo	Casca

### **4.3. Preparação e caracterização química dos extratos**

As amostras vegetais foram coletadas com base nas partes indicadas popularmente em Janeiro de 2014, sendo reduzidas a partes menores com a finalidade de aumentar a superfície de contato e evitar a contaminação do material, e submetidas a exposição ambiente por 2 semanas para desidratação, não sendo suficiente foi colocado em estufa a 40°C para finalização do processo. Após secagem, as amostras foram pulverizadas em moinho vertical de facas tipo Willye (Adamo 340) e padronizadas em tamises, obtendo granulometria de 20 Mesh (1,2 mm), sendo acondicionadas em sacos de papel até a preparação dos extratos. Após este processo, as amostras foram submetidas à extração por maceração de 48 horas cada na proporção de 1:10 (m/v) com etanol 80%, o líquido extrator foi renovado por duas vezes totalizando o número de 3 macerações. Em seguida, os extratos foram filtrados e submetidos à evaporação sob pressão reduzida, à temperatura de  $40 \pm 5^\circ \text{C}$ , até total secura.

### **4.4. Determinação do conteúdo fenólico total**

Para determinação do conteúdo fenólico total foi utilizado a metodologia descrita por Amorim et. al. (2008). O extrato seco foi diluído em metanol P.A numa concentração de 1mg/mL em balão volumétrico de 50 mL, em triplicata.

Foi adicionada uma alíquota de 0,2 mL (200  $\mu\text{L}$ ) do extrato diluído a um tubo de ensaio. Posteriormente, foram adicionados 500  $\mu\text{L}$  do reagente Folin-Ciocalteu (solução aquosa 10%), 1 mL de solução de carbonato de sódio (7,5%) e completado o volume com água destilada para 10 mL. Após a preparação desta solução, agitou-se adequadamente, permanecendo em repouso por 30 minutos, ao abrigo da luz, a temperatura ambiente. Após esse período, a absorbância da mistura foi medida a 760 nm contra um branco preparado com água destilada.

Como padrão foi utilizado o ácido tânico, preparando-se uma curva de calibração em tubos de ensaio com alíquotas de 0.050, 0.100, 0.150, 0.200, 0.250, 0.500, 0.750 e 1 mL da solução padrão de ácido tânico a 1 mg/mL, em água destilada. Posteriormente, foram adicionados 500  $\mu\text{L}$  da solução de Folin-Ciocalteu e 1 mL da solução de carbonato de sódio em cada tubo de ensaio. O volume final foi completado para 10 mL com água destilada. As concentrações finais obtidas do ácido tânico foram 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 5.0; 7.5; 10.0

$\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. A cor azul produzida pela reação possui uma absorção máxima a 760 nm e é proporcional à taxa de compostos fenólicos. O teor de fenois totais foi expresso como miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de amostra (mg TAE/g) (AMORIM et. al., 2008).

#### **4.5. Determinação do conteúdo de taninos**

A determinação do teor de taninos foi realizada segundo protocolo desenvolvido por Amorim et. al. (2008) adaptado para as espécies. O extrato seco foi diluído em metanol P.A numa concentração de 1mg/mL em balão volumétrico de 50 mL, em triplicata.

Posteriormente, foram pesados 1 g de caseína e transferidos para erlenmeyer de 50 mL, acrescentando 6 mL da amostra diluída e 12 mL de água destilada, em triplicata. Após 3 (três) horas de reação sob agitação, filtrou-se a solução em balão volumétrico e completado o volume para 25 mL com água destilada. Foi retirada uma alíquota de 1 mL e quantificados os fenois residuais pelo método Folin-Ciocalteu. O teor de taninos foi calculado pela diferença entre o conteúdo de fenois totais e fenois residuais. Como padrão foi utilizado o ácido tânico, a curva de calibração foi preparada conforme descrito no item 4.4

#### **4.6. Determinação do conteúdo de flavonoides**

A quantificação dos teores de flavonoides foi baseada na metodologia descrita por Peixoto Sobrinho et al. (2008). O método é fundamentado na reação do íon alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ) com moléculas de flavonoides da amostra, estabelecendo o complexo estável flavonoide- $\text{Al}^{3+}$ , de coloração amarela, cuja intensidade é proporcional à concentração de flavonoides. Esta reação promove um deslocamento batocrômico e uma intensificação de suas absorções, podendo ser quantificado sem sofrer influência de outros compostos fenólicos presentes na amostra.

O extrato seco foi diluído em metanol P.A numa concentração de 1mg/mL em balão volumétrico de 50 mL, em triplicata. Para quantificar os flavonoides, uma alíquota de 0,2 mL (200  $\mu\text{L}$ ) do extrato diluído foi transferida para tubos de ensaio. Posteriormente, foram adicionados 0,120 mL (120  $\mu\text{L}$ ) de ácido acético glacial, 2 mL da solução de piridina (20%, v/v em metanol P.A), 0,5 mL (500  $\mu\text{L}$ ) do reagente cloreto de alumínio (5%, p/v em água

destilada) e completado o volume para 10 mL com água destilada em cada tubo. Após a preparação desta solução, agitou-se adequadamente, permanecendo em repouso por 30 minutos, ao abrigo da luz, a temperatura ambiente. Após esse período, a absorbância da mistura foi medida a 420 nm contra um branco preparado com água destilada.

Preparou-se a curva de calibração com alíquotas de 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,50; 2,00 mL da solução de rutina (0,1 mg/mL em metanol), em tubos de ensaio. Posteriormente, foram adicionados 120  $\mu$ L da solução de ácido acético, 2 mL da solução de piridina, 0,5 mL do reagente cloreto de alumínio. O volume final foi completado para 10 mL com água destilada. As concentrações finais de rutina foram de 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0  $\mu$ g/mL, respectivamente. O teor de flavonoides totais foi expresso como miligramas equivalente de rutina por grama de extrato (mg ER/g).

#### **4.7. Determinação do conteúdo de cumarinas**

O ensaio colorimétrico descrito por Osório e Martins (2004) com adaptações foi utilizado para quantificar o conteúdo de cumarinas. Foram transferidos 0,5 mL do extrato diluído (1,0 mg/mL) para tubos de ensaio. Posteriormente, foram adicionados 2 mL de água destilada e 500  $\mu$ L da solução de acetato de chumbo. Agitou-se a amostra e, em seguida, foram adicionados 7 mL de água destilada. Desta solução, 2 mL foram transferidos para novos tubos de ensaio e adicionados 8 mL da solução de ácido clorídrico.

As amostras permaneceram por 30 minutos ao abrigo da luz à temperatura ambiente. A absorbância da mistura foi medida a 320 nm contra um branco preparado com água destilada.

A curva de calibração (alíquotas de 10, 25, 100, 200, 300, 400, 500  $\mu$ L) foi preparada com uma solução padrão de 1,2-benzopirona e todos os demais reagentes citados anteriormente para os extratos, aferindo-se o volume final para 10 mL com água destilada. O ensaio foi realizado em triplicata e as concentrações finais de cumarina ficaram entre 0,4-20,0  $\mu$ g/mL. O teor de cumarinas totais foi expresso como miligramas equivalente de cumarina por grama de extrato (mg EC/g).

#### 4.8. Quantificação da atividade antioxidante

A atividade sequestradora de radicais livres foi determinada medindo a capacidade de um composto para remover os radicais livres do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), conforme descrito por Peixoto Sobrinho et al. (2011) com modificações.

O extrato seco foi diluído em metanol P.A numa concentração de 0,5 mg/mL em balão volumétrico de 100 mL, em triplicata. Alíquotas de 100 a 1000 µL de cada extrato ou padrão foram transferidos para tubos de ensaio, aferindo-se o volume final para 5 mL com metanol P.A. As concentrações finais dos extratos ou padrão foram de 10-500 µg/mL. A 0,5 mL das concentrações dos extratos diluídos em metanol foram adicionados 3 mL da solução de DPPH a 40 µg/mL (ou 3 mL de metanol para fazer o branco) em cada tubo, em duplicata. As soluções foram agitadas cuidadosamente e deixadas em repouso por 30 minutos, ao abrigo da luz, a temperatura ambiente. A absorbância da mistura foi medida a 517 nm, contra um branco preparado com metanol. A solução do controle negativo consiste na utilização da solução de DPPH a 40 µg/mL. A atividade de remoção de radicais livres foi expressa como a Concentração Eficiente capaz de capturar 50% dos radicais (CE<sub>50</sub>).

#### 4.9. Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS)

O FPS foi determinado, *in vitro*, pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur (1986). As amostras foram colocadas em vidros de relógio e levadas a estufa a 40 °C por 60 minutos a fim de eliminar qualquer vestígio de solvente. Posteriormente, o extrato seco foi diluído em etanol P.A obtendo-se uma concentração de 100 mg/mL em balão volumétrico de 50 mL, em triplicata. Foram realizadas dissoluções para obtenção de soluções com concentrações de 5, 25, 50 e 100 mg/L. As leituras espectrofotométricas foram realizadas em espectrofotômetro UV/VIS em cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, na faixa de 260 a 400 nm com intervalos de 5 nm. As absorbâncias obtidas foram adicionadas na equação 2 (MANSUR, 1986) e obtido o FPS espectrofotométrico *in vitro*. O álcool etílico absoluto foi utilizado como branco (VIOLANTE, 2009).

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot abs(\lambda)$$

**Equação 2:** Equação desenvolvida por Mansur (1986) para obtenção do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro*.

Onde:

FPS: Fator de Proteção Solar.

FC: Fator de correção (=10), determinado de acordo com dois filtros solares de FPS conhecidos, de tal forma que um creme contendo 8% de homossalato resultasse no FPS 4.

EE ( $\lambda$ ): Efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda ( $\lambda$ ).

I ( $\lambda$ ): Intensidade da luz solar no comprimento de onda ( $\lambda$ ).

Abs ( $\lambda$ ): Absorbância da solução da formulação contendo filtro solar no comprimento de onda ( $\lambda$ ).

#### 4.10. Desenvolvimento de gel dermatológico

Foi realizado o desenvolvimento de uma forma farmacêutica para uso tópico do extrato que apresentou melhor atividade fotoprotetora. O polímero utilizado foi o carbopol 940, mais comumente empregado em géis de uso tópico. A formulação foi preparada conforme a produção da Farmácia Escola Carlos Drummond de Andrade (FECDA/UFPE) e descrita por Souza e Ferreira (2010), com adaptações. Em um Becker foram adicionados 1000 mL de água destilada, sob agitação e aquecimento, foram adicionados os adjuvantes farmacotécnicos nas concentrações descritas abaixo. Posteriormente, o agente gelificante (Carbopol 940) foi adicionado lentamente a fim de não haver a formação de grânulos. Em seguida, o Becker foi retirado do aquecimento sendo adicionado o Propilenoglicol e posteriormente feita a correção do pH com aminometilpropanol. Posteriormente, com a base preparada, foi incorporado o extrato vegetal à 2% sob agitação. Todas as amostras foram preparadas em duplicata. O carbopol foi utilizado na concentração de 1%. Os conservantes utilizados foram metilparabeno (0,1%), propilparabeno (0,05%) e o EDTA (0,1%). O aminometilpropanol à 1% foi o agente responsável pela correção do pH (6,0-6,5). O Propilenoglicol à 3% foi o agente molhante.

#### 4.11. Determinação das especificações do produto acabado/Estabilidade Preliminar

Após a preparação do gel, estudos de estabilidade do produto, foram necessários para garantia da segurança e eficácia da formulação desenvolvida, conforme parâmetros de análise de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004; BRASIL, 2005; BRASIL, 2007).

- *Aspectos*: Foi verificada a presença de alterações como: separação de fases, precipitação e turvação. As amostras foram descritas como normal, sem alteração; levemente separada; separada; precipitada ou turva.

- *Cor*: Foi comparada visualmente, entre os produtos, a cor de cada um deles e com a cor do padrão, que foi uma amostra que não sofreu os processos de avaliação de estabilidade. As amostras foram classificadas, em relação a cor como: normal, sem alteração; levemente modificada; modificada; intensamente modificada.

- *Odor*: Foi comparado o odor de cada um dos produtos com o odor do padrão estabelecido. As amostras foram classificadas, em relação ao odor, em: normal, sem alteração; levemente modificado; modificado; intensamente modificado.

- *Densidade*: Foi tarada uma proveta de 50 mL na balança analítica (Marte AL500) em seguida colocado o produto até completar o volume de 50 mL da proveta. Em seguida, foi determinada a massa de cada um dos produtos e dividido por 50 mL para ser encontrado a densidade do produto em g/mL.

- *pH*: Foi determinado o pH (pHmetro de bancada Tecnoyon) a partir de uma dispersão aquosa a 10% (p/p) da amostra analisada (2 g do gel) e em seguida foram comparados com valores compatíveis com o pH da região aplicada (ISAAC et al. 2008).

- *Estudo reológico das formulações*: Em um béquer de 50 mL, foram colocados 50 g do produto e realizado estudo reológico. O estudo reológico foi realizado analisando a viscosidade para as seguintes rotações do spindle: 20; 30; 40; 50; 60; 70 e 80 rpm, respectivamente de forma crescente. Foi utilizado o spindle de número 7 e dado o intervalo de dois minutos entre as velocidades de rotação.

- *Avaliação da estabilidade*: A avaliação da estabilidade foi realizada observando o estudo preliminar de centrífuga (Centribio 80 - 2B), o estudo de estabilidade preliminar em

ciclo gelo-degelo (12 dias) e o estudo da estabilidade acelerada (tempo 0, 7, 15, 30, 60 e 90 dias).

- *Estudo preliminar de centrífuga*: Os produtos desenvolvidos foram colocados aos pares, com o mesmo peso, cerca de 8 g de cada produto (incluindo tubos de centrífuga, material desenvolvido, tampas e suportes). Em seguida, foram colocados na centrífuga, em lados opostos, e ligados a 3000 rpm durante 30 minutos.

- *Estudo de estabilidade ciclo gelo-degelo*: Os produtos desenvolvidos foram colocados em ciclo de gelo-degelo (congelador Consul 437L e estufa Nova Técnica NT 513) durante um período de 12 dias, alternando entre 24h a temperatura de  $45\pm 2^{\circ}\text{C}$  e 24h a temperatura de  $-5\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Até o término dos 12 dias, após cada ciclo de 24h, antes de ser colocado em outro ciclo, o material repousou até temperatura ambiente. Ao término do período os produtos foram avaliados sob os aspectos pré-determinados.

- *Estudo de estabilidade acelerada*: os produtos desenvolvidos foram colocados em estufa (Nova Técnica NT 513) a  $45\pm 2^{\circ}\text{C}$  e avaliados nos tempos 0, 7, 15, 30, 60 e 90 dias, sob os aspectos pré-determinados.

#### **4.12. Análise Estatística**

Foram realizadas análises de variância Kruskal Wallis seguido de comparações múltiplas pelo teste de Dunn. As concentrações eficientes ( $\text{CE}_{50}$ ) foram calculadas a partir de regressão obtida com as concentrações das amostras e das atividades antioxidantes. Foi utilizado o teste de correlação de Spearman para comparar o conteúdo fenólico total, de taninos, flavonoides e cumarinas entre estes e as concentrações eficientes ( $\text{CE}_{50\%}$ ) das amostras e o Fator de Proteção Solar. As diferenças foram consideradas significativas ao nível de  $p < 0,05$ . O programa BioEstat 5.0 foi utilizado para realização das análises estatísticas (Ayres et al., 2007) e GraphPad Prism 5.0 para análise regressão e construção dos gráficos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta sessão apresenta os resultados obtidos na parte experimental da dissertação e confronta os mesmos com os resultados encontrados na literatura.

### 5.1. Fitoquímica

Os teores de fenois totais, taninos, flavonoides e cumarinas encontram-se na Tabela 2. Os valores expressos são as médias das replicatas acompanhadas do desvio padrão em mg/g equivalente de ácido tânico para fenois totais e taninos, equivalente de rutina para flavonoides e equivalente de 1,2-benzopirona para as cumarinas.

As espécies que apresentaram maiores teores de fenois totais foram *Schinopsis brasiliensis* (Baraúna), *Anadenanthera colubrina* (Angico) e *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira), apresentando valores de  $493,88 \pm 7,52$ ;  $490,36 \pm 5,80$  e  $489,23 \pm 20,65$  mg/g, respectivamente. Porém, o conteúdo destas espécies não tiveram diferença significativa para mais 6 espécies: *Spondias tuberosa* (Umbu), *Cedrela odorata* (Cedro), *Caesalpinia ferrea* (Jucá), *Maytenus rigida* (Bom Nome), *Mimosa tenuiflora* (Jurema Lisa) e *Anacardium occidentale* (Caju), conforme mostra a Tabela 2.

Com relação ao conteúdo de taninos, destacaram-se *Anacardium occidentale* (Caju) e *Spondias tuberosa* (Umbu), as quais apresentaram teores de  $460,85 \pm 11,66$  e  $452,51 \pm 16,53$ ; mg/g, respectivamente. Contudo, estatisticamente não há diferença significativa destes teores com os de 6 outras espécies: *Cedrela odorata* (Cedro), *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira), *Anadenanthera colubrina* (Angico), *Caesalpinia ferrea* (Juca), *Mimosa tenuiflora* (Jurema Lisa) e *Schinopsis brasiliensis* (Baraúna).

Em relação aos flavonoides apenas uma espécie se destacou, *Erythrina velutina* (Mulungu) que apresentou um teor de  $226,39 \pm 53,35$  mg/g, não sendo detectado, este tipo de metabólito, em 7 espécies. Quanto ao teor de cumarinas nas amostras, apenas duas espécies apresentaram concentração considerável, *Amburana cearensis* (Imburana Açú) e *Erythrina velutina* (Mulungu) obtendo valores de  $461,40 \pm 33,84$  e  $433,33 \pm 14,29$  mg/g, respectivamente. Assim como para os flavonoides, não foi detectado teor de cumarinas em 33,33% das amostras.

**Tabela 2:** Teores (mg/g) de fenois totais, taninos, flavonoides e cumarinas expressos em média  $\pm$  desvio padrão das espécies estudadas.

Nome Científico	Nome Popular	FT (mg EAT/g)	TAN (mg EAT/g)	FLA (mg ER/g)	CUM (mg EC/g)
<i>Amburana cearensis</i>	Imburana açú	221,56 $\pm$ 18,12 acde	192,20 $\pm$ 22,17 acd	141,45 $\pm$ 20,73 a	461,40 $\pm$ 33,84 a
<i>Anacardium occidentale</i>	Caju roxo	478,56 $\pm$ 19,53 be	460,85 $\pm$ 11,66 b	ND b	115,79 $\pm$ 13,93 ab
<i>Anadenanthera colubrina</i>	Angico	490,36 $\pm$ 5,80 b	342,08 $\pm$ 18,78 abc	ND b	ND b
<i>Boerhavia diffusa</i>	Pega pinto	ND c	ND c	ND b	ND b
<i>Caesalpinia ferrea</i>	Jucá	370,33 $\pm$ 28,82 abcd	370,33 $\pm$ 25,87 bde	10,68 $\pm$ 5,45 ab	62,12 $\pm$ 17,21 ab
<i>Cedrela odorata</i>	Cedro	477,78 $\pm$ 18,28 be	447,53 $\pm$ 22,35 be	25,21 $\pm$ 10,36 a	34,85 $\pm$ 2,62 ab
<i>Cereus jamacaru</i>	Mandacaru	ND c	ND c	62,82 $\pm$ 14,43 a	68,18 $\pm$ 7,87 ab
<i>Crateva tapia</i>	Trapiá	ND c	ND c	ND b	ND b
<i>Erythrina velutina</i>	Mulungu	186,28 $\pm$ 10,86 ac	147,89 $\pm$ 11,33 acd	226,39 $\pm$ 53,35 a	433,33 $\pm$ 14,29 a
<i>Maytenus rigida</i>	Bom nome	382,43 $\pm$ 5,79 abc	296,20 $\pm$ 5,75 ace	37,50 $\pm$ 8,81 a	ND b
<i>Mimosa tenuiflora</i>	Jurema lisa	478,46 $\pm$ 3,61 ab	379,50 $\pm$ 1,51 ab	ND b	36,51 $\pm$ 7,27 ab
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Aroeira	489,23 $\pm$ 20,65 b	441,66 $\pm$ 29,06 be	12,70 $\pm$ 6,20 ab	117,46 $\pm$ 7,27 ab
<i>Schinopsis brasiliensis</i>	Baraúna	493,88 $\pm$ 7,52 b	367,12 $\pm$ 18,45 ab	ND b	ND b
<i>Spondias tuberosa</i>	Umbu	452,56 $\pm$ 14,76 abd	452,51 $\pm$ 16,53 b	2,14 $\pm$ 3,16 b	187,72 $\pm$ 3,04 ab
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	Pau d'arco roxo	107,22 $\pm$ 7,72 cd	84,42 $\pm$ 3,22 ac	ND b	87,72 $\pm$ 8,04 ab

FT = Fenois Totais, TAN = Taninos, FLA = Flavonoides, CUM = Cumarinas, ND = Não Detectado. Letras iguais na mesma coluna indicam não diferença estatística conforme Kruskal Wallis (seguido de Dunn),  $p < 0.05$ .

Alguns estudos com plantas medicinais da Caatinga apontam a presença de compostos fenólicos em várias espécies deste bioma, sendo um indicativo de que estes compostos podem estar relacionados com muitas das atividades terapêuticas atribuídas popularmente a estas espécies (MONTEIRO et al., 2006; ALENCAR et al., 2009). Araújo e colaboradores (2008) também evidenciaram o quantitativo de taninos e flavonoides de diversas espécies da Caatinga relacionando estes com uso popular.

Os compostos fenólicos possuem propriedades antioxidantes, antiinflamatórias e imunomodulatórias comprovadas. Atualmente, vêm sendo estudados como agentes quimio-preventivos. Estudos apontam a eficácia deste grupo de metabólitos no combate à inflamação, estresse oxidativo, danos ao DNA e supressão da resposta imune, induzidos pela radiação UV. Estas atividades atreladas à fotoprotetora, incluindo a atividade antioxidante, contribuem para a ação antifotocarcinogênica destes compostos (BALOGH et al., 2011).

O estudo de bioprospecção realizado por Siqueira e colaboradores (2011), inclui treze espécies em comum com o presente estudo. Os autores apresentam *Mimosa tenuiflora* (jurema lisa) como a espécie com maior conteúdo de taninos, com um teor de 12,58%. Este resultado diverge dos obtidos no presente estudo, pois teores mais elevados deste metabólito foram observados nas plantas estudadas, inclusive não sendo esta a espécie que se destacou como possuidora de maior teor. Estas diferenças podem ser justificadas, no primeiro caso, pelo fato da divergência do método de extração, demonstrando a influência deste no quantitativo de compostos extraídos de espécies vegetais. No segundo caso, a análise dos taninos no estudo de bioprospecção foi realizada pelo método de difusão radial de Hagerman, sendo os métodos baseados em diferentes propriedades químicas.

No mesmo estudo o conteúdo de flavonoides também foi descrito, sendo a espécie *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira) a detentora do maior percentual (2,95%). Devido ao fato da metodologia de análise ser a mesma, baseada na complexação dos flavonoides com o alumínio, uma possível explicação seria o período de coleta das amostras, não informada no estudo, visto que podem ocorrer variações nas concentrações de metabólitos secundários nas plantas dependendo das condições ambientais diferentes em cada período do ano. Como as amostras foram coletadas no mês de janeiro, onde ocorre uma grande intensidade de radiação solar e a função de proteção solar dos flavonoides nas plantas (MELLO; SANTOS, 2001), pode haver uma relação com o aumento deste tipo de metabólito nas espécies estudadas.

A questão dos fatores ambientais influenciarem na concentração de metabólitos secundários nas plantas da Caatinga já vem sendo estudada. Diversos fatores como foto-

período, intensidade luminosa e temperatura podem provocar alterações significativas nos compostos fenólicos, dentre eles taninos e flavonoides (PEIXOTO SOBRINHO et al., 2009). Estudos apontam que a intensidade luminosa é capaz de influenciar na concentração e/ou composição de metabólitos secundários (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Monteiro e colaboradores (2006) observaram que a sazonalidade climática pode influenciar no conteúdo de taninos pois, houve um aumento no conteúdo destes metabólitos em duas espécies da Caatinga, *Anadenanthera colubrina* (Angico) e *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira), no período de estiagem na região.

Em outro estudo realizado por Peixoto Sobrinho e colaboradores (2009) foi observado que indivíduos, de uma espécie da Caatinga, localizados nas bordas da mata apresentaram um teor de flavonoides maior quando comparados com indivíduos localizados no interior da mata na maior parte do ano. Porém, não ficou evidenciado a relação existente entre a pluviosidade e um aumento na produção destes metabólitos.

Em relação ao conteúdo de cumarinas, a literatura mostra que alguns estudos apontaram a presença deste metabólito nas cascas de *Amburana cearensis* (Imburana Açú), além das propriedades antinociceptiva e antiinflamatória desta espécie esta relacionada com a presença deste metabólito e flavonoides (OLIVEIRA et al., 2009; SÁ et al., 2014). O gênero *Erythrina* também é descrito na literatura como possuidor de espécies com altos teores de cumarinas, sendo elas encontradas na sua maioria nas folhas, inflorescência e cascas (BONA et al., 2012).

Outro fato relevante é a presença de grande quantidade de flavonoides e cumarinas nas amostras de cascas de algumas espécies como *Erythrina velutina* (Mulungu) e *Amburana cearensis* (Imburana Açú). Além da alta exposição à radiação solar das plantas deste bioma, estas espécies são caducifólias, fazendo com que metabólitos comumente encontrados em maior quantidade nas folhas e frutos como o caso de flavonoides e cumarinas, respectivamente se desloquem para outras partes da planta, visto que os metabólitos podem ser flutuantes nos órgãos das plantas (KSOURI et al., 2008).

Entre as quinze espécies avaliadas quanto à composição química, houve apenas correlação positiva entre os compostos fenólicos totais e os taninos ( $r_s = 0,7734$ ,  $p = 0,0007$ ), não ocorrendo correlação entre os demais metabólitos secundários testados.

Esta correlação já era esperada visto que as amostras das plantas estudadas, em sua maioria, foram cascas ou entrecascas pois, são partes da planta que normalmente sofrem com

ataque de predadores como herbívoros e insetos, sendo os taninos responsáveis pela proteção da planta contra esses agentes (MONTEIRO et al., 2005). Em estudo realizado por Araújo e colaboradores (2008) foi observado que, em espécies medicinais da Caatinga, os taninos estão localizados em maior percentual nas amostras de cascas.

A não correlação dos compostos fenólicos totais com os demais metabólitos secundários também já era esperada devido a localização de tais metabólitos nas plantas, apesar dos mesmos poderem ser encontrados em diferentes órgãos da planta. Os flavonoides por apresentarem funções relacionadas a proteção da planta contra a incidência de raios UV e visível (MELLO; SANTOS, 2001), além de atração de animais polinizadores (MARTENS; MITHÖFER, 2005), possuem um maior percentual de seu conteúdo nas folhas das plantas. Assim como os flavonoides, as cumarinas não apresentam níveis de concentração elevados nas cascas das plantas, apesar de serem sintetizadas, em sua maioria, nas folhas possuem nos frutos os maiores níveis e raízes, podendo ocorrer variações nas partes devido a mudanças sazonais e ambientais (OJALA et al., 2000).

## 5.2. Atividade Antioxidante e Fotoprotetora

A capacidade de captura do radical livre DPPH representada pela concentração eficiente 50% (CE<sub>50</sub>) e os valores do Fator de Proteção Solar (FPS), nas 4 concentrações utilizadas, estão expressos em médias  $\pm$  desvio padrão na Tabela 3.

O extrato bruto de *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira) apresentou a maior capacidade de captura do radical livre DPPH obtendo a menor CE<sub>50</sub> no valor de  $10,39 \pm 0,56$   $\mu\text{g/mL}$ . Se comparado ao ácido ascórbico, controle positivo, a espécie citada acima mostrou-se mais eficaz na atividade testada pois, tirando-se as médias das 4 curvas utilizadas para avaliação da atividade das plantas, o padrão positivo apresentou uma média na CE<sub>50</sub> de  $14,78 \pm 1,40$   $\mu\text{g/mL}$ , isto significa que o poder antioxidante da espécie pode ser comparável ao poder já conhecido do ácido ascórbico. Porém, apesar de obter maior atividade antioxidante dentre as demais plantas testadas, a espécie não apresentou diferença significativa para 7 outras espécies: *Anacardium occidentale*, *Anadenanthera colubrina*, *Caesalpinia ferrea*, *Cedrela odorata*, *Mimosa tenuiflora*, *Schinopsis brasiliensis* e *Spondias tuberosa* conforme mostrado na Tabela 3.

**Tabela 3:** Valores da CE<sub>50</sub> (µg/mL) e do FPS nas concentrações de 5, 25, 50 e 100 mg/mL expressos em média ± desvio padrão.

Nome Científico	CE <sub>50</sub> (µg/mL)	FPS			
		5 mg/L	25 mg/L	50 mg/L	100 mg/L
<i>Amburana cearensis</i>	332,89 ± 21,32 acd	0,42 ± 0,01	1,96 ± 0,04	3,89 ± 0,04	7,61 ± 0,14 ac
<i>Anacardium occidentale</i>	17,53 ± 0,65 ab	0,25 ± 0,03	1,52 ± 0,03	3,02 ± 0,12	6,12 ± 0,02 ab
<i>Anadenanthera colubrina</i>	10,79 ± 1,16 be	S/A	0,15 ± 0,00	0,48 ± 0,04	1,08 ± 0,09 bc
<i>Boerhavia diffusa</i>	1003,04 ± 87,41 ac	0,15 ± 0,05	0,26 ± 0,07	0,43 ± 0,06	0,73 ± 0,07 b
<i>Caesalpinia ferrea</i>	21,92 ± 1,32 abc	0,28 ± 0,02	0,91 ± 0,04	1,68 ± 0,12	3,29 ± 0,21 ab
<i>Cedrela odorata</i>	13,63 ± 0,96 bd	0,23 ± 0,01	0,65 ± 0,03	1,34 ± 0,18	2,28 ± 0,02 ab
<i>Cereus jamacaru</i>	1177,37 ± 97,64 c	0,28 ± 0,01	0,78 ± 0,06	1,69 ± 0,23	2,98 ± 0,33 ab
<i>Crateva tapia</i>	13158,01 ± 4664,93 c	0,08 ± 0,03	0,25 ± 0,13	0,51 ± 0,30	0,91 ± 0,61 bd
<i>Erythrina velutina</i>	838,05 ± 78,77 ac	0,43 ± 0,05	2,33 ± 0,34	4,84 ± 0,64	9,71 ± 1,30 a
<i>Maytenus rigida</i>	49,71 ± 4,13 acde	S/A	0,14 ± 0,09	0,47 ± 0,12	1,13 ± 0,24 bc
<i>Mimosa tenuiflora</i>	19,13 ± 0,38 abc	S/A	0,30 ± 0,01	0,81 ± 0,04	1,85 ± 0,02 ab
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	10,39 ± 0,56 b	0,21 ± 0,11	1,15 ± 0,02	2,52 ± 0,06	5,15 ± 0,06 ab
<i>Schinopsis brasiliensis</i>	14,06 ± 0,88 bd	0,20 ± 0,03	1,41 ± 0,11	3,03 ± 0,16	6,26 ± 0,28 ab
<i>Spondias tuberosa</i>	19,34 ± 1,82 abc	0,26 ± 0,02	1,73 ± 0,11	3,58 ± 0,19	7,22 ± 0,36 acd
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	332,89 ± 21,32 acd	0,10 ± 0,03	0,71 ± 0,05	1,50 ± 0,09	3,03 ± 0,19 ab

CE<sub>50</sub> = Concentração Eficiente 50%, FPS = Fator de Proteção Solar. Letras iguais na mesma coluna indicam não diferença estatística conforme Kruskal-Wallis (seguido de Dunn), p < 0.05.

A avaliação de atividade antioxidante é de fundamental importância no estudo de plantas medicinais, visto que muitos dos efeitos nocivos ao organismo são causados por radicais livres. Em estudo realizado por Melo e colaboradores (2010) foi desenvolvida uma classificação dos agentes antioxidantes vegetais baseada no desempenho do extrato bruto em relação ao padrão utilizado. No estudo as plantas foram classificadas quanto à atividade em três grupos: boa atividade (plantas com  $CE_{50} < 65 \mu\text{g/mL}$ , até três vezes a concentração eficiente do controle positivo), atividade intermediária (plantas com  $65 \mu\text{g/mL} < CE_{50} < 152 \mu\text{g/mL}$ , entre três e sete vezes a concentração eficiente do controle positivo) e baixa atividade (plantas com  $CE_{50} > 152 \mu\text{g/mL}$ , maior que sete vezes a concentração eficiente do controle positivo).

Utilizando a classificação proposta por Melo e colaboradores (2010) das quinze plantas testadas para atividade antioxidante, nove espécies com boa atividade e seis espécies com baixa atividade. Como já dito anteriormente, os radicais livres promovem uma série de efeitos nocivos ao organismo, incluindo a pele, dentre eles estão efeitos mais graves como dano ao DNA e a multiplicação de células sem reparo, ocasionando mutações que podem resultar em tumores. Alguns flavonoides e outros metabólitos, encontrados em plantas, podem exercer atividade antimutagênica por captura de radicais livres com baixas doses, diferente de alguns antioxidantes sintéticos conhecidos que em excesso podem provocar toxicidade aguda ou até mesmo carcinogenicidade ao organismo (DORNAS et al., 2007).

Entre as quinze espécies estudadas, a atividade antioxidante correlacionou-se negativamente com os compostos fenólicos totais e os taninos ( $r_s = -0,9435$ ,  $p < 0,0001$ ;  $r_s = -0,8108$ ,  $p = 0,0002$ , respectivamente), não ocorrendo correlação da atividade com os flavonoides e as cumarinas. Esta correlação negativa se explica pelo decréscimo do radical livre DDPH frente ao aumento dos compostos fenólicos totais e taninos nas amostras.

Alguns estudos têm mostrado haver correlação entre os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante (WOJDYLO et al., 2007). Li e colaboradores (2009) mostraram boa correlação entre os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante indicando uma contribuição significativa deste grupo de metabólitos para a atividade estudada. Diferentemente do encontrado, Orcic e colaboradores (2011) mostraram uma boa correlação da atividade antioxidante com frações de extratos vegetais ricos em flavonoides glicosídicos e pobres em biflavonoides como a amentoflavona, sugerindo a contribuição do primeiro tipo para a atividade antioxidante.

Atualmente, o mercado de protetores solares é dominado por filtros solares sintéticos, que além de onerosos, possuem ação exclusivamente fotoprotetora, havendo a necessidade de incorporação de compostos com outras funções, o que agregará maior custo, além de possíveis reações alérgicas à pele visto que uma maior quantidade de compostos sintéticos será empregada ao produto. Além disso, os consumidores vêm demonstrando rejeição pelo uso de antioxidantes sintéticos e buscando produtos de origem vegetal (SILVA et al., 2010).

Na literatura, muitos trabalhos avaliam a importância da ação dos antioxidantes na fotoproteção (BALOGH et al., 2011). Em estudo realizado por Wu e colaboradores (2011) foi evidenciado que preparações contendo agentes antioxidantes obtiveram diminuição nos eritemas causados na pele até 72h após à exposição pela radiação UV quando comparado com formulações com apenas os filtros solares.

Com isso, a busca por novos produtos fotoprotetores de origem natural, como os extratos vegetais, tem se tornado mais comum devido aos mesmos apresentarem, além da fotoproteção, outras atividades terapêuticas atreladas como antiinflamatória e antioxidante, combatendo assim alguns dos danos causados pela radiação solar (BALOGH et al., 2011; EBRAHIMZADEH et al., 2014).

Quanto ao FPS, a espécie *Erythrina velutina* (Mulungu) apresentou o melhor resultado em todas as concentrações testadas obtendo um valor de  $9,71 \pm 1,30$  na concentração de 100 mg/L, conforme mostrado no Gráfico 1. Porém, do ponto de vista estatístico, o valor do FPS da espécie não apresentou diferença significativa para o apresentado por outras dez espécies na mesma concentração (100 mg/L). A partir da análise da Tabela 3, pode-se observar que outras espécies como *Amburana cearensis*, *Anacardium occidentale*, *Schinopsis brasiliensis* e *Spondias tuberosa* também apresentaram bons valores de FPS.

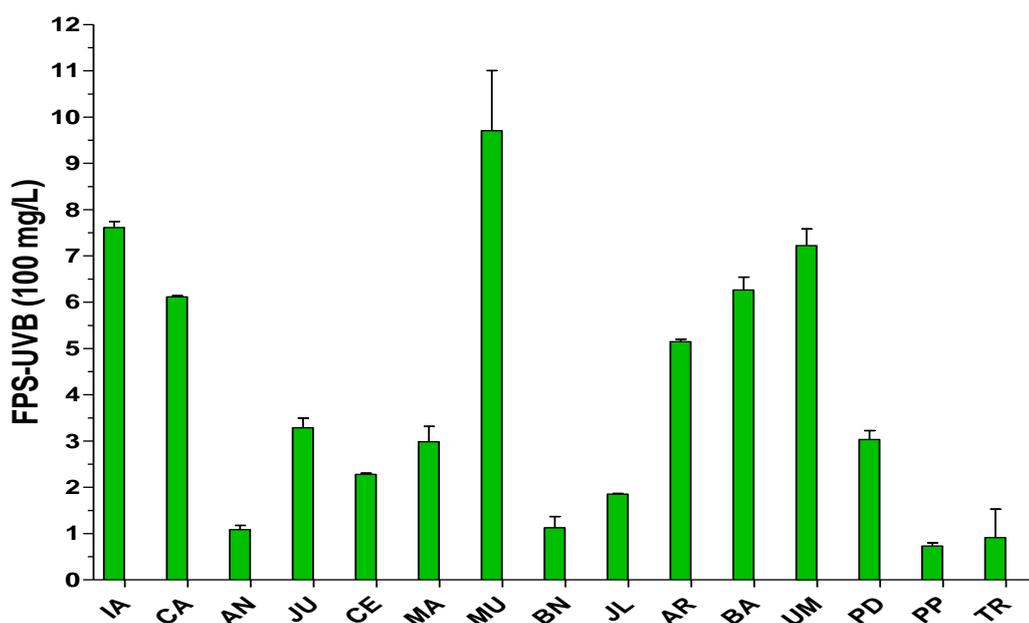
Entre o grupo de plantas estudadas, a atividade fotoprotetora correlacionou-se positivamente apenas com as cumarinas ( $r_s = 0,6811$ ,  $p = 0,0052$ ) indicando uma contribuição significativa deste grupo de metabólitos para a atividade estudada, não havendo relação com os demais metabólitos e com a atividade antioxidante. Os resultados obtidos corroboram com o estudo realizado por Ebrahimzadeh e colaboradores (2014), no qual não foi observada correlação da atividade fotoprotetora com flavonoides e atividade antioxidante, utilizando-se um grupo de 20 extratos obtidos de plantas medicinais.

O FPS é uma medida quantitativa da eficácia de um protetor solar. A quantificação *in vitro* é de grande importância no desenvolvimento de um produto fotoprotetor, visto que os

mesmos apresentam boa correlação com os testes *in vivo* auxiliando desta maneira estes métodos (NASCIMENTO et. al., 2009; KAUR; SARAF, 2010).

De acordo com o Jornal Oficial da União Européia (2006) o grau mínimo de FPS que um protetor solar deve apresentar é 6, tendo este pelo menos uma proteção na faixa do UVB. Este valor desse ser obtido na aplicação do método de ensaio do fator de proteção solar internacional ou um grau de proteção equivalente obtido com um método *in vitro* validado.

No Brasil, os filtros solares em produtos cosméticos eram regulamentados pela RDC nº 237/02, que trazia o valor do FPS recomendado para determinados fototipos de pele sendo classificados em pouco sensível ( $2 \leq \text{FPS} < 6$ ), sensível ( $6 \leq \text{FPS} < 12$ ), muito sensível ( $12 \leq \text{FPS} < 20$ ) e extremamente sensível ( $\text{FPS} \geq 20$ ). Além disso, mostra as metodologias aceitas para obtenção do FPS e determina que os produtos que apresentam em sua rotulagem a designação "contém filtro solar" devem ter no mínimo um fator de proteção 2 comprovado em uma das metodologias aceitas.



**Gráfico 1:** Valores do FPS-UVB na concentração de 100 mg/mL das espécies estudadas. FPS-UVB= Fator de Proteção Solar UVB, IA= Imburana Açú, CA= Caju, AN= Angico, JU= Jucá, CE= Cedro, MA= Mandacaru, MU= Mulungu, BN= Bom Nome, JL= Jurema Lisa, AR= Aroeira, BA= Baraúna, UM= Umbu, PD= Pau D'arco, PP= Pega Pinto e TR= Trapiá.

A partir das legislações internacionais e do avanço nos estudos sobre os raios da radiação solar para a pele, foi necessário a reavaliação da legislação brasileira culminando em uma nova resolução em 2012, passando de um regulamento técnico nacional para um

regulamento técnico entre os países do Mercosul dada a incorporação do regulamento ao ordenamento jurídico nacional a Resolução GMC MERCOSUL nº 08/2011. A RDC nº 30/12 dispunha sobre os mesmos aspectos da resolução anterior, porém com alterações quanto da classificação: pele pouco sensível ( $6 \leq \text{FPS} \leq 14,9$ ), pele sensível ( $15 \leq \text{FPS} \leq 29,9$ ), pele muito sensível ( $30 \leq \text{FPS} \leq 50$ ) e pele extremamente sensível ( $50 < \text{FPS} < 100$ ) e no valor de FPS mínimo passando de um valor de 2 para FPS de 6. Além disso, foi acrescida a exigência de proteção contra a radiação UVA que deve ser de no mínimo 1/3 do valor declarado no rótulo da embalagem. No Canadá, os produtos com finalidade fotoprotetora devem ter um valor mínimo do fator de proteção de 15.

Os valores elevados de FPS para classificação quanto ao fototipo de pele vêm sendo discutidos logo após a primeira resolução publicada. Com o avanço da tecnologia e conscientização da população para o uso de fotoprotetores ficou comum a utilização de produtos com FPS maiores que 40. Porém, sabe-se que fatores de proteção 25 são capazes de bloquear 96% da radiação solar enquanto que fatores de proteção 50 bloqueiam apenas 2% a mais (MILESI; GUTERRES, 2002).

Este fato levanta uma discussão, uma vez que o consumidor é induzido a pensar que o fator por ser o dobro do outro também protegerá duas vezes mais. Além disso, quanto maior o FPS mais oneroso e maior o risco deste produto causar reações alérgicas à pele, devido ao fato do filtro estar em concentrações maiores. A partir disso, o FDA em uma de suas monografias proibiu que os rótulos apresentassem valores maiores que 30, tendo que conter a designação "30+" ou "30 Plus" sendo revisto em 2011, através do registro federal nº 117, uma proposta que limita o FPS em 50, assim como em países como Canadá, Japão, países da União Européia. Na Austrália, um dos países com metodologia aceita para cálculo do FPS, o limite nos rótulos é de 30.

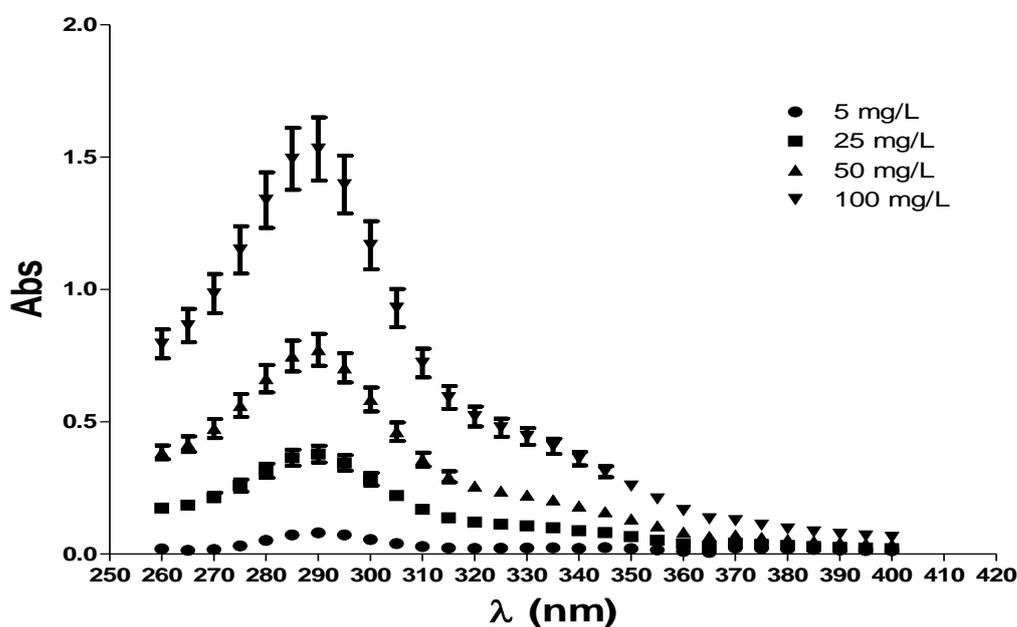
Atualmente, espécies da caatinga são pouco estudadas quanto a atividade fotoprotetora porém, espécies de outras regiões do Brasil e de outros países vêm sendo estudadas com maior frequência. Em estudo realizado por Oliveira Júnior e colaboradores (2013) foram mostrados bons resultados de FPS em uma espécie nativa da Caatinga (*Neoglaziovia variegata*), onde foram testadas amostras de folhas obtidas da extração com 4 diferentes solventes, sendo observado valores de FPS elevados nos extratos clorofórmico e acetato de etila.

No Brasil, outras regiões apresentam um maior número de estudos para atividade fotoprotetora como a região do cerrado. Porém, as espécies estudadas por Violante e

colaboradores (2009) não demonstraram potencial capacidade fotoprotetora, assim como o estudo realizado na Índia por Suva (2014) com extratos de *Zingiber officinale*, onde apresentou valores de FPS baixos em concentrações de 200 e 400 mg/L.

Outras formas de avaliar a atividade fotoprotetora também vêm sendo utilizadas como a determinação do percentual de inibição de eritemas causados pela radiação solar. Martorana e colaboradores (2013) mostraram que houve uma inibição de aproximadamente 65% de eritemas na pele quando da proteção com formulações contendo 2% de extrato das sementes de *Pistacia vera*.

Além da melhor atividade fotoprotetora, *Erythrina velutina* apresentou um pico de absorção máximo em 290 nm, conforme mostra o Gráfico 2, ficando as demais plantas estudadas com picos abaixo desse comprimento de onda. Este resultado é de fundamental importância visto que o pico de absorção da espécie ficou na faixa da radiação UVB (290-320 nm), o que justifica a utilização desse extrato em produtos fotoprotetores. Devido a estes fatores, a espécie foi escolhida para a incorporação em gel dermatológico.



**Gráfico 2:** Absorbâncias de *Erythrina velutina* nas concentrações de 5, 25, 50 e 100 mg/mL. Abs= Absorbância, λ= Comprimento de onda.

Conforme recomendado por Batistuzzo e colaboradores (2006), as concentrações de filtros solares utilizados no desenvolvimento de protetores solares podem variar entre 2% e

7,5% (UVB e UVA). Com isso, foi incorporado o extrato bruto das cascas de *Erythrina velutina* à 2% (p/p).

### 5.3. Especificações do Produto Acabado

#### 5.4.1. Propriedades Organolépticas e Físico-químicas

As especificações iniciais do produto acabado estão descritas na Tabela 4, sendo de grande importância para comparação com os resultados obtidos após a avaliação da estabilidade.

**Tabela 4:** Especificações iniciais do gel dermatológico das cascas de *Erythrina velutina* 2%.

Parâmetros	Gel (D-0)	
	DP1	DP2
Aspecto	N	N
Cor	V	V
Odor	I	I
Densidade (g/mL)	1,03	1,09
pH	5,75	5,84

N= normal, sem alteração; V= verde médio; I= Normal e característico; DP1= Duplicata 1; DP2= Duplicata 2.

A formulação apresentou um aspecto normal, com coloração verde, odor característico, porém houve uma aglomeração do extrato em determinados pontos da formulação quando da incorporação, possivelmente devido a utilização de propilenoglicol para solubilizar o extrato bruto. Em estudo conduzido por Schalka e colaboradores (2012), os resultados mostraram que protetores solares classificados como coloridos possuem melhor eficácia de absorção quando comparados aos brancos como os protetores físicos, além de possuírem uma melhor aceitabilidade cosmética por parte do consumidor, principalmente do sexo feminino.

A aglomeração de partículas em uma preparação com finalidade fotoprotetora é um ponto negativo, apesar da mesma não ter interferido na estabilidade do produto. A formação

de aglomerados no protetor ocasiona a formação de uma película não homogênea na pele que pode acarretar em uma diminuição do nível de proteção, além de que a formação destes aglomerados não são desejados do ponto de vista estético, pois interferem no aspecto do produto. Devido a isto os filtros inorgânicos não são recomendados para a incorporação na forma farmacêutica gel (FLOR et al., 2007).

Além das propriedades organolépticas alguns parâmetros físico-químicos foram avaliados, antes da avaliação de estabilidade, dentre eles estão o pH e a densidade. De acordo com os resultados obtidos a densidade se mostrou próximo a densidade da água em torno de 1,06 g/ml. O pH é um parâmetro de fundamental importância para as formulações dermatológicas pois, dependendo do valor do mesmo são utilizados com finalidades diferentes por exemplo formulações com pH em torno de 3,5 são ideais para uma ação esfoliante (VELASCO et al., 2004), o valor do pH também pode ser um excelente indicador funcional da pele (LEONARDI et al., 2002).

Muitos autores divergem sobre o valor do pH da pele humana, alguns apontam um pH levemente ácido na faixa de 4,6-5,8 (LEONARDI et al., 2002), outros mostram na faixa de 4,0-6,5 (SAVIAN et al., 2011) e há os que defendem um valor em torno de 5,5 (MEIRELES et al., 2007), este valor de pH contribui para uma proteção fungicida e bactericida na superfície da pele (PERIOTO, 2008), logo os produtos de uso tópico, incluindo os cosméticos, devem possuir um valor de pH mais próximo ao da pele evitando assim alterações em seu mecanismo de defesa. Além disso, o estudo realizado por Martorana e colaboradores (2013) evidenciou que o pH de fato influencia nos compostos fenólicos de extratos vegetais diminuindo a capacidade antioxidante dos mesmos devido a dissociação de prótons em condições alcalinas.

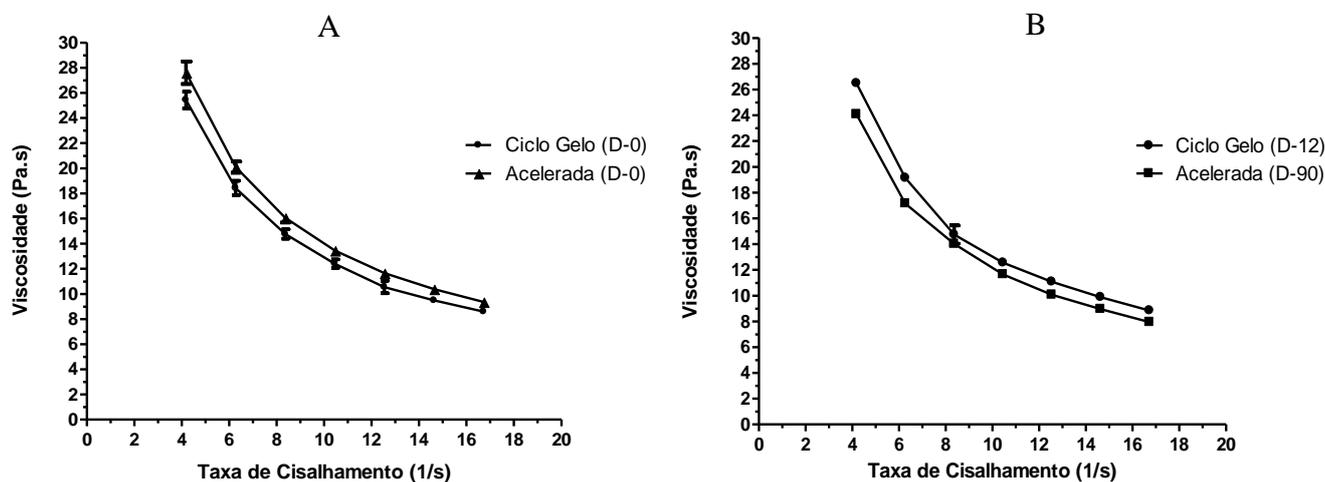
Mesmo com a não congruência entre os autores a respeito do pH da pele o resultado obtido na formulação de *Erythina velutina* apresentou um valor médio de 5,79 sendo compatível com o descrito na literatura, mantendo-se em um pH levemente ácido. De acordo com Lin e colaboradores (2007) este tipo de pH pode evitar a degradação de alguns flavonoides comumente encontrados em extratos vegetais, fazendo como que não ocorra a diminuição de algumas das atividades relacionadas a estes compostos como a atividade antioxidante.

#### 5.4.2. Estudo Reológico da Formulação

Os estudos reológicos são utilizados há algum tempo no campo científico para a análise do comportamento das formulações de uso tópico e têm se tornado um parâmetro fundamental no controle de qualidade, eficácia e aceitação do produto quando de sua utilização pelo consumidor.

Em relação ao estudo reológico do gel fotoprotetor das cascas de *Erythrina velutina*, os resultados obtidos, antes do estudo de estabilidade, apontam um comportamento não-newtoniano, pois não apresentou viscosidade constante durante o estudo, do tipo pseudoplástico, isto é observado quando ocorre uma diminuição não linear de viscosidade aparente em função da velocidade de cisalhamento aplicada ao fluido, ou seja, a viscosidade é inversamente proporcional a tensão de cisalhamento (Gráfico 3A) (SCHRAMM, 2006).

Este tipo de comportamento em um protetor solar representa uma boa aceitação no mercado de cosméticos e por parte da população que dela fará uso, pois quando da aplicação do produto, se houver uma diminuição na viscosidade, a espalhabilidade do mesmo no corpo tende a melhorar.



**Gráfico 3:** Comportamento reológico do produto antes do estudo de estabilidade (A) e após estudo de estabilidade (B).

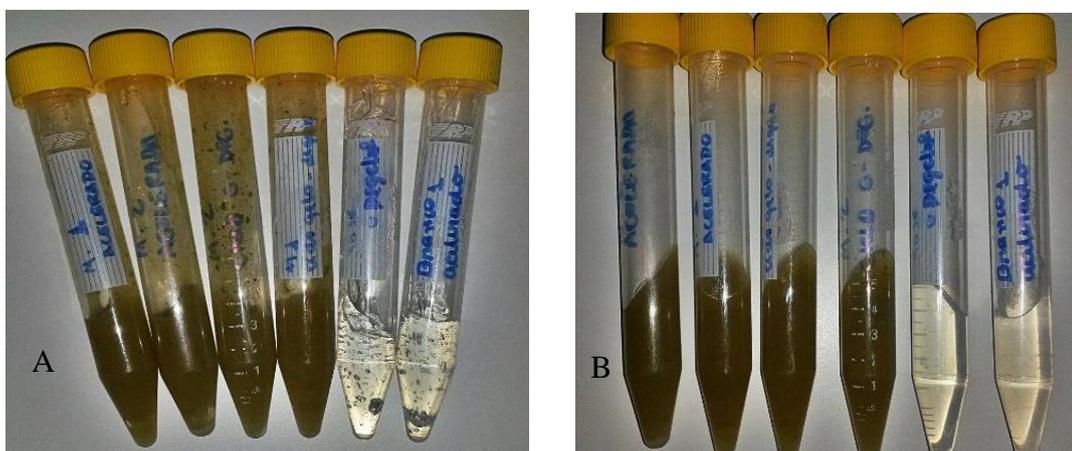
O Gráfico 3B mostra o comportamento reológico após os estudos de estabilidade ciclo gelo-degelo e estabilidade acelerada (Dia 12 e Dia 90, respectivamente), em ambos os ensaios o comportamento da formulação se manteve igual ao tempo inicial (Dia 0). Outro ponto

relevante foi o fato da não alteração nos valores da viscosidade do gel tendo um coeficiente de variação médio de 3,45% no ciclo gelo-degelo e 5,26% na estabilidade acelerada, esta manutenção quando do armazenamento, principalmente em temperaturas elevadas ( $\geq 40$  °C), é indicativo de uma boa estabilidade física do produto testado (CORRÊA et al., 2005).

#### 5.4.3. Avaliação da Estabilidade

Os estudos de estabilidade de cosméticos possuem grande importância, pois a partir deles podemos avaliar parâmetros essenciais que atribuem, aos novos produtos desenvolvidos, qualidade, eficácia e segurança para o consumidor (FERREIRA, 2006).

O estudo de estabilidade foi dividido em três ensaios com a mesma finalidade, mas com diferentes condições de estresse na formulação. No teste preliminar de centrifuga não ocorreu nenhum tipo de alteração do produto como separação de fases, coalescência ou formação de precipitados, mostrando-se estável frente a este parâmetro (Figura 4). Este tipo de teste não é utilizado para determinar a vida útil do produto desenvolvido, mas fornece um direcionamento nos demais estudos (BRASIL, 2004).



**Figura 4:** Estudo preliminar de centrifuga. (A) Momento anterior ao teste, (B) Momento posterior.

Os resultados após o ciclo gelo-degelo e durante o estudo de estabilidade acelerada estão mostrados na Tabela 5. O ciclo gelo-degelo possui uma grande relevância, ele fornece dados sobre a estabilidade da formulação quando esta é submetida a mudanças bruscas na temperatura de armazenamento. Após os 12 dias do teste, não foram constatadas mudanças

nas propriedades organolépticas e físico-químicas do produto quando comparado com os dados iniciais obtidos, houve uma diminuição do pH, no entanto o mesmo se manteve compatível com o pH da pele descrito na literatura.

Em relação ao estudo de estabilidade acelerada não houve alterações no aspecto, pH e viscosidade do produto. A densidade mostrou um aumento no 7º dia do estudo apresentando um valor médio de 1,11 g/mL, possivelmente por perda de água da formulação devido o aumento de temperatura, não sendo esta alteração suficiente para promover instabilidade ao produto.

A cor e o odor também sofreram alterações, sendo perceptível a partir do trigésimo dia com uma coloração verde escura e um odor acentuado. De acordo com Sponchiado e colaboradores (2013) altas temperaturas aumentam as reações físico-químicas e químicas, podendo levar a alterações na atividade de componentes, viscosidade, aspecto, cor e odor. A alteração da cor do produto pode ser explicada devido uma provável oxidação e/ou formação de complexos de alguns flavonoides presentes na formulação (BARRY, 2005).

A observação de mudanças nas propriedades organolépticas da formulação quando do armazenamento em temperaturas elevadas, como no teste de estabilidade acelerada, comprometem a qualidade do produto final e no que diz respeito a aceitação por parte do consumidor. Uma possível alternativa para melhoria da estabilidade da formulação e dos componentes vegetais nela presentes é a adição de um ou mais agentes com boa atividade antioxidante, o que protegeria a formulação da oxidação ou formação de complexos (SAVIAN et al., 2011), obtendo um efeito sinérgico com os componentes do extrato que já possuem esta capacidade antioxidante.

**Tabela 5:** Especificações do gel dermatológico das cascas de *Erythrina velutina* 2% após o ciclo gelo-degelo e durante a avaliação da estabilidade acelerada.

<b>Parâmetros</b>	<b>Ciclo Gelo-Degelo (D-12)</b>	<b>Acelerada (D-7)</b>	<b>Acelerada (D-15)</b>	<b>Acelerada (D-30)</b>	<b>Acelerada (D-60)</b>	<b>Acelerada (D-90)</b>
Aspecto	N	N	N	N	N	N
Cor	V	V	V	VE	VE	VE
Odor	I	I	I	A	A	A
Densidade (g/mL)	1,02	1,11	1,03	1,02	1,03	1,04
pH	5,63	5,59	5,65	5,59	5,70	5,72

N= normal, sem alteração; V= verde médio; VE= Verde Escuro; I= Normal e característico; A= Acentuado.

## 6. CONCLUSÃO

## 6. CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que espécies nativas da Caatinga, utilizadas popularmente para tratar processos inflamatórios, apresentaram um bom potencial fotoprotetor com possibilidade de utilização das mesmas em preparações farmacêuticas de mesma finalidade. Dentre os metabólitos secundários testados, as cumarinas se destacaram por apresentar correlação com a atividade fotoprotetora, indicando uma contribuição significativa deste grupo de metabólitos para tal atividade, este resultado apresenta uma relevância para o estudo, visto que se apresenta como uma resultado não descrito na literatura.

Apesar da escolha de *Erythrina velutina* Willd. outras espécies demonstraram bom potencial fotoprotetor podendo ser utilizadas em trabalhos futuros para o desenvolvimento de produtos destinados a proteção da pele, além de apresentarem boa capacidade antioxidante atrelada.

A forma farmacêutica obtida após incorporação do extrato das cascas de *Erythrina velutina* Willd. apresentou estabilidade mesmo em condições adversas de armazenamento. Porém, quando da incorporação apresentou a forma de aglomerados sendo um indicativo de uma possível diminuição da eficácia fotoprotetora.

Com isso, faz-se necessário um estudo mais aprofundado sobre os aspectos farmacotécnicos pois, o desenvolvimento de formulações é de fundamental importância para obtenção de uma forma farmacêutica que atenda os quesitos de segurança e eficácia. Além disso, processos de otimização de extração e a utilização de outras partes da planta são interessantes para obtenção de maiores teores de metabólitos secundários e conseqüentemente aumento da atividade desejada.

## REFERÊNCIAS

- AFAQ, F. Natural agents: Cellular and molecular mechanisms of photoprotection. **Archives Biochemistry and Biophysics**. v. 508, p. 144-151, 2011.
- AFAQ, F.; KATIYAR, S.K. Polyphenols: Skin Photoprotection and Inhibition of Photocarcinogenesis. **Mini-reviews in Medicinal Chemistry**. v. 11, n. 14, p. 1200-1215. 2011.
- AFAQ F.; MUKHTAR H. Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging. **Experimental Dermatology**. v. 15, n. 9, p. 678-684. 2006.
- ALENCAR, N.L.; ARAÚJO, T.A.S.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Can the Apparency Hypothesis explain the selection of medicinal plants in an area of caatinga vegetation? A chemical perspective. **Acta Botanica Brasilica**. v. 23, p. 908-909, 2009.
- AMORIM, E.L.C.; NASCIMENTO, J.E.; MONTEIRO, J.M.; PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; ARAÚJO, T.A.S.; ALBUQUERQUE, U.P. A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. **Functional Ecosystems and Communities**. v. 2, n. 1, p. 88-94, 2008.
- ANDRADE, L.A.; PEREIRA, I.M.; LEITE, U.T.; BARBOSA, M.R.V. Análise da cobertura de duas fitofisionomias de Caatinga, com diferentes históricos de uso, no município de São João do Cariri, Estado da Paraíba. **Cerne**. v.11, n.3, p.253-262, 2005.
- ARAÚJO, T.A.S. et al. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 120, n. 1, p.72-80. 2008.
- AYRES, M.; AYRES, M.J.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Sociedade Civil Mamirauá, Brasília, 2007.
- BALOGH, T. S.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 36, n. 4, p. 732-42. 2011.
- BARG, M.; REZIN, G.T.; LEFFA, D.D.; BALBINOT, F.; GOMES, L.M.; CARVALHO-SILVA, M.; VUOLO, F.; PETRONILHO, F.; DAL-PIZZOL, F.; STRECK, E.L.; ANDRADE, V.M. Evaluation of the protective effect of *Ilex paraguariensis* and *Camellia sinensis* extracts on the prevention of oxidative damage caused by ultraviolet radiation. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. v. 37, p. 195-201. 2014.
- BARRY, B. Liberação transdérmica de fármacos. In: **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2 ed. Ed. Artmed: Porto Alegre, p. 504-534, 2005.
- BATISTUZZO, J.; ITAYA, M.; ETO, Y. **Formulário Médico Farmacêutico**. 3 ed. Ed. Pharmabooks: São Paulo, p. 93-98, 2006.

BIAVATTI, M.; MARENISI, V.; LEITE, S.N.; REIS, A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 4, p.640-653. 2007.

BOBIN, M.F.; RAYMOND, M.; MARTINI, M.C. Propriedades de absorção UVA/UVB de produtos naturais. **Cosmetics ; Toiletries**. v. 7, p. 44-50, 1995.

BOLFA, P.; VIDRIGHINESCU, R.; PETRUTA, A.; DEZMIREAN, D.; STAN, L.; VLASE, L.; DAMIAN, G.; CATOI, C.; FILIP, A.; CLICHICI, S. Photoprotective effects of Romanian propolis on skin of mice exposed to UVB irradiation. **Food and Chemical Toxicology**. v. 62, p. 329-342, 2013.

BONA, A.; BATITUCCI, M.C; ANDRADE, M.A.; RIVA, J.A.R.; PERDIGÃO, T. Estudo fitoquímico e análise mutagênica das folhas e inflorescência de *Erythrina mulungu* (Mart. ex Benth) através do teste de micronúcleo em roedores. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 14, n. 2, p. 344-351, 2012.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília. 2004.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução específica nº. 01: Guia para realização de estudos de estabilidade. Brasília. 2005.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerencia Geral de Cosméticos. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. Brasília. 2007.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 237, de 22 de agosto de 2002**. Regulamento Técnico sobre Protetores Solares e Cosméticos. Alterada por: **Resolução RDC nº 30, de 01 de junho de 2012**. Brasília, DF, 2012.

CABRAL, L.D.S.; PEREIRA, S.O.; PARTATA, A.K. Filtros Solares e Fotoprotetores mais Utilizados nas Formulações no Brasil. **Revista Científica do ITPAC**. v. 4, n. 3, p. 1-10, 2011.

CHEN, L.; HU, J.Y.; WANG, S.Q. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. **Journal of the American Academy Dermatology**. v. 67, n. 5, p. 1013-1024. 2012.

CHORILLI, M.; UDO, M.S.; CAVALLINI, M.E.; LEONARDI, G.R. Desenvolvimento e estudos preliminares de estabilidade de formulações fotoprotetoras contendo Granlux GAI-45 TS. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 27, n. 3, p. 237-246, 2006.

CLAERHOUT, S.; VAN LAETHEM, A.; AGOSTINIS, P.; GARMYN, M. Pathways involved in sunburn cell formation: deregulation in skin cancer. **Photochemical ; Photobiological Sciences**. v. 5, n. 2, p. 199-207. 2006.

CORDEIRO, M.S.F.; COSTA, J.K.B.; LIMA, C.G.; JÚNIOR, J.D.C.C.; MELO, A.F.M. Desenvolvimento tecnológico e avaliação de estabilidade de gel dermatológico a partir do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe). **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 94, n. 2, p. 148-153, 2013.

CORRÊA, N.M.; JÚNIOR, F.B.C.; IGNÁCIO, R.F.; LEONARDI, G.R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 41, n. 1, p. 73-78, 2005.

DELAZAR, A.; TALISCHI, B.; NAZEMIYEH, H.; REZAZADEH, H.; NAHAR, L.; SARKER, S. D. Chrozophorin: a new acylated flavone glucoside from *Chrozophora tinctoria* (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n. 3, p. 286-290, 2006.

DORNAS, W.C.; OLIVEIRA, T.T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R.G.; SANTOS, A.F. NAGEM, T.J. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 28, n. 3, p. 241- 249, 2007.

DUTRA, E.A. et al. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 40, n. 3, p. 381-385, 2004.

DYVIA, R.; SAMBANDAN, B.A.; RATNER, D. Sunscreens: a review update. **Journal of American Academy Dermatology**. v. 64, n. 4, p. 748-758, 2012.

EBRAHIMZADEH, M.A.; ENAYATIFARD, R.; KHALILI, M.; GHAFFARLOO, M.; SAEEDI, M.; YAZDANI, C.J. Correlation between Sun Protection Factor and Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of some Medicinal Plants. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**. v.13, n.3, p.1041-1047, 2014.

EL-SHITANY, N.A.; EL-HAGGAR, S.; EL-DESOKY, K. Silymarin prevents adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. **Food and Chemical Toxicology**. v. 46, n. 7, p. 2422-2428, 2008.

FDA. U.S. Food and Drug Administration. OTC **Rulemaking Propose Rules about limit maximum labeled SPF value**. Federal Register. v. 76, n. 117, p. 35672-35678, 2011.

FERREIRA, A.O. Formas Farmacêuticas semi-sólidas. In: **Guia prático de farmácia magistral: boas práticas de manipulação**. 1 ed. Anfarmg: Juiz de Fora, p. 1-2, 2006.

FERREIRA, E.E.; BRANDÃO, P.R.G.; KLEIN, B.; PERES, A.E.C. Reologia de suspensões minerais: uma revisão. **Revista Escola de Minas**. v. 58, n. 1, p. 83-87, 2005.

FIGUEIREDO, S.A.; VILELA, F.M.P.; SILVA, C.A.; CUNHA, T.M.; SANTOS, M.H.; FONSECA, M.J.V. In vitro and in vivo photoprotective/photochemopreventive potential of *Garcinia brasiliensis* epicarp extract. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. v. 131, p. 65-73, 2014.

FLOR, J.; DAVOLOS, M.R.; CORREA, M.A. Protetores Solares. **Química Nova**. v. 30, p. 153-158, 2007.

FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. On tyrosine and tryptophane determination in proteins. **Journal of Biology and Chemistry**. v. 73, p. 627-650, 1927.

GAGO-FERRERO, P; DÍAZ-CRUZ, M.S; BARCELÓ, D. An overview of UV-absorbing compounds (organic UV filters) in aquatic biota. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. v. 404, n. 9, p. 2597-2610, 2012.

GARCÍA, A.A; CARRIL, E.P-U. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca (Biología)**. v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GAZZANI, G.; PAPETTI, A.; DAGLIA, M.; BERTÈ, F.; GREGOTTI, C. Protective activity of water soluble components of some common diet vegetables on rat liver microsomes and the effect of thermal treatment. **Journal of Biology and Chemistry**, v.46, p.4123-4127, 2008.

GIOKAS, D.L.; SAKKAS, V.A.; ALBANIS, T.A.; LAMPROPOULOU, D.A. Determination of UV-filter residues in bathing Waters by liquid chromatography UV-diode array and gas chromatography-mass spectrometry after micelle mediated extraction-solvent back extraction. **Journal of Chromatography A**. v.1077, p.19-27, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**. v. 30, n. 2, p. 374-381. 2007.

GONZÁLEZ, S.; FERNÁNDEZ-LORENTE, M.; GILABERTE-CALZADA, Y. The latest on skin photoprotection. **Clinics in Dermatology**. v. 26, p. 614-626. 2008.

HEALTH CANADA. Drugs and Health Products. Sunscreen Monograph - version 2.0. Disponível em: <http://webprod.hc-sc.gc.ca/nhp/nd-bdipsn/atReq.do?atid=sunscreen-ecransolaire&>. Acesso em: 20 set 2014.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism and antioxidant functions. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.43, n.1, p.89-143, 2003.

IHA, S.M.; MIGLIATO, K.F.; VELLOSA, J.C.R.; SACRAMENTO, L.V.S.; PIETRO, R.C. L. R.; ISAAC, V.L.B.; BRUNETTI, I.L.; CORRÊA, M.A.; SALGADO, H.R.N. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocósmica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**.v. 18: n. 3, p. 387-393. 2008.

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 fitocósmicos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 29, n. 1, p. 81-96. 2008.

KAUR, C.D.; SARAF, S. *In vitro* sun protection factor determination of herbal oils used in cosmetics. **Pharmacognosy Research**. v. 2, n. 1, p. 22-25, 2010.

KSOURI, R.; MEGDICHE, W.; FALLEH, H.; TRABELSI, N.; BOULAABA, M.; SMAOUI, A.; ABDELLY, C. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. **Comptes Rendus Biologies**. v. 331, n. 11, p. 865-873, 2008.

LEGER. **Melanoma Solar**. Disponível em: [http://clinicalegerrj.com.br/melanose\\_solar.htm](http://clinicalegerrj.com.br/melanose_solar.htm). Acesso em: 10 Fev. 2015.

LEONARDI, G.R.; GASPAR, L.R.; CAMPOS, P.M.B.G.M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 77, n. 5, p. 563-569, 2002.

- LI X., WU X., HUANG L. Correlation between antioxidant activities and phenolic contents of radix *Angelicae sinensis* (Danggui). **Molecules**. v. 14, p. 5349-5361, 2009.
- LIN, Q.; WANG, J.; QIN, D.; BJÖRN, B. Influence of amphiphilic structures on the stability of polyphenols with different hydrophobicity. **Science in China Series B: Chemistry**. v. 50, n. 1, p.121-126, 2007.
- MARTENS, S.; MITHÖFER, A. Flavones and flavone synthases. **Phytochemistry**. v. 66, n. 20, p. 2399-2407, 2005.
- MARTORANA, M.; ARCORACI, T.; RIZZA, L.; CRISTANI, M.; BONINA, F.P.; SAIJA, A.; TROMBETTA, D.; TOMAINO, A. *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effect of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seed and skin extracts. **Fitoterapia**. v. 85, p. 41-48, 2013.
- MATSUI, M.S.; HSIA, A.; MILER, J.D.; HANNEMAN, K.; SCULF, H.; COOPER, K.D.; BARON, E. Non-sunscreen photoprotection: antioxidants add value to a sunscreen. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**. v. 14, p. 56-59, 2009.
- MEIRELES, C.; HERGY, F.; MOUSINHO, M.C.; AFONSO, S.; ROSADO, C. Caracterização da Pele Infantil e dos Produtos Cosméticos Destinados a esta Faixa Etária. **Revista Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde**. v. 4, n. 1, p. 73-80, 2007.
- MELNIKOVA, V.O; ANANTHASWAMY, H.N. Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**. v. 571, n. 1-2, p. 91-106, 2005.
- MELLO, J. P. C.; SANTOS, S. C. **Taninos**. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento; Simões, C. M. O.; Schenckel, E. P. (Orgs.). Ed. UFSC: Porto Alegre; 3ª ed., 2001. p. 527-554.
- MELO, J.G.; ARAÚJO, T.A.S.; CASTRO, V.T.N.A.; CABRAL, D.L.V.; RODRIGUES, M.D.; NASCIMENTO, S.C.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern Brazil. **Molecules**. v. 15, p. 8534-8542, 2010.
- MILESI, S.S.; GUTERRES, S.S. Fatores Determinantes da Eficácia de Fotoprotetores. **Caderno de Farmácia**. v. 18, n. 2, p. 81-87, 2002.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2014 - Incidência de Câncer no Brasil. Brasília, 2014.
- MISHRA, A.K.; MISHRA, A.; CHATTOPADHYAY, P. Assessment of physical stability and photoprotective activity of topical formulations added with calendula oil. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**. v. 12, n. 1, p. 35-40, 2012.
- MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**. v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.
- MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; LINS-NETO, E.M.F.; ARAÚJO, E.L.; AMORIM, E.L.C.. Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 105, p. 173-186, 2006.

MOREIRA, J.N.; LIRA, M.A.; SANTOS, M.V.F.; FERREIRA, M.A.; ARAÚJO, G.G.L.; FERREIRA, R.L.C.; SILVA, G.C. Caracterização da vegetação de caatinga e da dieta de novilhos no Sertão de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n. 11, p. 1643-1651, 2006.

MUNHOZ, V.M.; LONNI, A.A.S.G; MELLO, J.C.P.; LOPES, G.C. Avaliação do fator de proteção solar em fotoprotetores acrescidos com extratos da flora brasileira ricos em substâncias fenólicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 33, n. 2, p. 225-232, 2012.

NASCIMENTO, C.S.; NUNES, L.C.C; LIMA, A.A.N; JÚNIOR, S.G.; NETO, P.J.R. Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 90, n. 4, p. 334-339, 2009.

NASCIMENTO, L.F.; SANTOS, E.P.; AGUIAR, A.P. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. **Revista Virtual de Química**. v. 6, n. 2, p. 190-223, 2014.

OJALA, T.; REMES, S.; HAANSUU, P.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R.; HAAHTELA, K.; VUORELA, P. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 73, p. 299-305, 2000.

OLIVEIRA, R.R.B.; GÓIS, R.M.O.; SIQUEIRA, R.S.; ALMEIDA, J.R.G.S.; LIMA, J.T.; NUNES, X.P.; OLIVEIRA, V.R.; SIQUEIRA, J.S.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Antinociceptive effect of the ethanolic extract of *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Sm., Fabaceae, in rodents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, n. 3, p. 672-676, 2009.

OLIVEIRA JUNIOR, R.G.; ARAÚJO, C.S.; SOUZA, G.R.; GUIMARÃES, A.L.; OLIVEIRA, A.P.; LIMA-SARAIVA, S.R.G.; MORAIS, A.C.S.; SANTOS, J.S.R.; ALMEIDA, J.R.G.S. *In vitro* antioxidant and photoprotective activities of dried extracts from *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. v. 3, n. 1, p. 122-127, 2013.

ORČIĆ, D.Z.; MIMICA-DUKIĆ, N.M.; FRANCIŠKOVIĆ, M.M.; PETROVIĆ, S.S.; JOVIN, E.D. Antioxidant activity relationship of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L.. **Chemistry Central Journal**. v. 5, n. 34, p. 1-8, 2011.

OSÓRIO, A.C.; MARTINS, J.L.S. Determinação de cumarina em extrato fluido e tintura de guaco por espectrofotometria derivada de primeira ordem. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 40, n. 4, p. 481-486, 2004.

PALM, M.D.; O'DONOGHUE, M.N. Update on photoprotection. **Dermatologic Therapy**. v. 20, p. 360-376, 2007.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; SILVA, C.H.T.P.; NASCIMENTO, J.E.; MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 4, p. 683-689, 2008.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; CARDOSO, K.C.M.; GOMES, T.L.B.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Análise da pluviosidade e do efeito de borda sobre os teores de

flavonoides em *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud., Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, n. 3, p. 740-745, 2009.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S., CASTRO, V.T.N.A., SARAIVA, A.M., ALMEIDA, D.M., TAVARES, E.A., AMORIM, E.L.C. Phenolic content and antioxidant capacity of four *Cnidocolus* species (Euphorbiaceae) used as ethnopharmacologicals in Caatinga, Brazil. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 5, p. 2310-2316, 2011.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PERIOTO, D.K. **Cosmetologia Aplicada: princípios básicos**. 1 Ed. 2008.

POLONINI, H.C, RAPOSO, N.R.B.; BRANDÃO, M.A.F. Natural sunscreens for primary prevention of skin cancer. **Revista de APS**. v. 14, n. 2, p.216-223, 2011.

POLONINI, H.C.; GONÇALVES, K.M.; GOMES, T.B.B.; BRANDÃO, M.A.F.; CHAVES, M.G.A.M.; RAPOSO, N.R.B. Amazon native flora oils: *in vitro* photoprotective activity and major fatty acids constituents. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 93, n. 1, p. 102-108, 2012.

RAMOS, M.F.S.; SANTOS, E.P.; BIZARRI, C.H.; MATTOS, H.A.; PADILHA, M.R.; DUARTE, H.M. Preliminary studies towards utilization of various plant extracts as antisolares agents. **International Journal of Cosmetics Science**. v. 18, n. 3, p. 87-101, 1996.

RAMOS, M.F.S.; SANTOS, E.P.; DELLAMORA-ORTIZ, G.M. Avaliação da atividade antissolar e estudos preliminares de fotodegradação de própolis. **Revista Fitos**. v. 5, n. 3, p. 73-84, 2010.

RASTOGI, R.P.; RICHA; KUMAR, A.; TYAGI, M.B.; SINHA, R.P. Molecular Mechanisms of Ultraviolet Radiation-Induced DNA Damage and Repair. **Journal of Nucleic Acids**. v. 2010, p.1-32. 2010.

RIBEIRO, R. P.; SANTOS, V. M.; MEDEIROS, E. C.; SILVA, V. A.; VOLPATO, N. M.; GARCIA, S. Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* de produtos comerciais e em fase de desenvolvimento. **Infarma**. v.16, n.7-8, p.83-86, 2004.

RIGEL, D.S. Cutaneous ultraviolet exposure and its relationship to the development of skin cancer. **Journal of American Academy of Dermatology**. v. 58, n. 5, s. 2, p. S129-S132. 2008.

ROSA, M. B.; OLIVEIRA, T. G.; CARVALHO, C. A.; SILVA, F. D.; CARVALHO, L. M.; NASCIMENTO, P. C.; PERES, R. L. Estudo espectrofotométrico da atividade foto-protetora de extratos aquosos de *Achillea millefolium*, *Brassica oleracea* Var. Capitata, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* (Jacq.). **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. V, n. 1, p. 101-110, 2008.

SÁ, M.B.; RALPH, M.T.; NASCIMENTO, D.C.O.; RAMOS, C.S.; BARBOSA, I.M.S.; SÁ, F.B.; LIMA-FILHO, J.V. Phytochemistry and Preliminary Assessment of the Antibacterial Activity of Chloroform Extract of *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Sm. against *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing Strains. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2014, p. 1-7, 2014.

SAVIAN, A.L.; VARELLA, F.T.; ATHAYDE, M.L.; DA SILVA, C.B. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 91, n. 2, p. 82-88, 2011.

SCHALKA, S.; ADDOR, F.A.S.; AGELUNE, C.M.; PEREIRA, V.M.C. Proteção oferecida por fotoprotetores contra luz visível - uma proposta de avaliação. **Surgical ; Cosmetic Dermatology**. v. 4, n. 1, p. 45-52, 2012.

SCHALKA, S.; REIS, V.M.S. Fator de proteção solar: significado e controvérsias. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 86, n. 3, p. 507-515, 2011.

SCHRAMM, G. **Reologia e Reometria- Fundamentos teóricos e práticos**. 2ª ed. Editora Artliber: Rio de Janeiro, 2006.

SERPONE, N.; DONDI, D.; ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. **Inorganica Chimica Acta**. v. 360, n. 3, p. 794-802, 2007.

SGARBI, F.C.; CARMO, E.D.; ROSA, L.E.B. Radiação Ultravioleta e Carcinogênese. **Revista de Ciências Médicas**. v. 16, n. 4-6, p. 245-250, 2007.

SILVA, C.T.; JASIULIONIS, M.G. Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. **Ciência e Cultura**. v. 66, n. 1, 2014.

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SIQUEIRA, C.F.Q.; CABRAL, D.L.V.; PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; AMORIM, E.L.C.; MELO, J.G.; ARAÚJO, T.A.S.; ALBUQUERQUE, U.P. Levels of Tannins and Flavonoids in Medicinal Plants: Evaluating Bioprospecting Strategies. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 2012, p. 1-7, 2011.

SOLER-RIVAS, C.; ESPIN, J.C.; WICHERS, H.J. An easy fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. **Phytochem. Anal.**, v.11, p.330-338, 2000.

SOUZA, V.B. ; FERREIRA, J.R.N. Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca* L.). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 31, n. 3, p. 217-222, 2010.

SOUZA, S.R.P; FISCHER, F.M.; SOUZA, J.M.P. Suntanning and risk of cutaneous melanoma: a literature review. **Revista de Saúde Pública**. v. 38, n. 4, p. 588-598, 2004.

SPONCHIADO, R.M.; MASCARENHAS JUNIOR, I.; BARANCELLI, M.; HAAS, S.E. Influência da adição de extrato de chá-verde sobre a estabilidade e efeito fotoprotetor de emulsões fps 15. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 34, n. 4, p. 591-596, 2013.

STHAL, W.; SIES, H. Carotenoids and flavonoids contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. **Molecular Biotechnology**. v. 37, n. 1, p. 26-30, 2007.

SURMAN, L.L.; BARBOSA, L.M.Q.; SIQUEIRA, S.D.V.S.; SILVA, K.G.H.; OLIVEIRA, A.G.; EGITO, E.S.T. Potencialidades de Veículos Microemulsionados para Fotoprotetores Físicos. **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 28, n. 1, p. 133-140, 2009.

SUVA, M.A. Evaluation of Sun Protection Factor of *Zingiber officinale* Roscoe Extract by Ultraviolet Spectroscopy Method. **Journal of PharmaSciTech**. v. 3, n. 2, p. 95-97, 2014.

SVOBODOVÁ, A.; PSOTOVA, J.; WALTEROVA, D. Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký**. v. 147, n. 2, p. 137-145, 2003.

TOYOSHIMA, M.; HOSODA, K.; HANAMURA, M.; OKAMOTO, K.; KOBAYASHI, H.; NEGISHI, T. Alternative methods to evaluate the protective ability of sunscreen against photo-genotoxicity. **Journal Photochemistry and Photobiology B**. v. 73, n. 1-2, p. 59-66, 2004.

TROVÃO, D.M.B.M.; SILVA, S.C.; SILVA, A.B.; VIEIRA JÚNIOR, R.L. Estudo comparativo entre três fisionomias de caatinga no estado da Paraíba e análise do uso das espécies vegetais pelo homem nas áreas de estudo. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v. 4, n. 2: internet, 2004.

UNIÃO EUROPÉIA. Jornal Oficial da União Européia. L 265/39. Recomendação da comissão relativa à eficácia e às propriedades reivindicadas dos protetores solares. 22 de Setembro de 2006.

VELASCO, M.V.R.; BALOGH, T.S.; PEDRIALI, C.A.; SARRUF, F.D.; PINTO, C.A.S.O.; KANEKO, T.M.; BABY, A.R. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (*in vitro*) - revisão. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 32, n. 1, p. 27-34, 2011.

VELASCO, M.V.R.; RIBEIRO, M.E.; BEDIN, V.; OKUBO, F.R.; STEINER, D. Rejuvenescimento da pele por *peeling* químico: enfoque no *peeling* de fenol. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 77, n. 1, p. 91-99, 2004.

VICENTINI, F.T.M.C.; HE, T.; SHAO, Y.; FONSECA, M.J.; VERRI, W.A. Jr.; FISHER, G.J.; XU, Y. Quercetin inhibits UV irradiation-induced inflammatory cytokine production in primary human keratinocytes by suppressing NF- $\kappa$ B pathway. **Journal of Dermatological Science**. v.61, n.3, p.162-168, 2011.

VIOLANTE, I.M.P.; SOUZA, I.M.; VENTURINI, C.L.; RAMALHO, A.A.F.S.; SANTOS, R.A.N.; FERRARI, M. In vitro sunscreen activity evaluation of plants extracts from Mato Grosso cerrado. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, n. 2A, p. 452-457, 2009.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANM, G.; MELLO, J. C. P. de, MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª edição, rev. e amp. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, cap. 23, p. 577-614, 2004.

WOJDYŁO, A.; OSZMIAŃSKIA, J.; CZEMERYYS, R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chemistry**. v. 105, n. 3, p. 940-949, 2007.

WU, Y.; MATSUI, M.S.; CHEN, J.Z.; JIN, X.; SHU, C.M.; JIN, G.Y.; DONG, G.H.; WANG, Y.K.; GAO, X.H.; CHEN, H.D.; LI, Y.H. Antioxidants add protection to a broad-spectrum sunscreen. **Clinical and Experimental Dermatology**. v. 36, n. 2, p. 178-187, 2011.