



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA

PRISCYLLA DA SILVA GIFFONY

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA *IN VITRO*
DO EXTRATO DO CAULE DE *SPONDIAS PURPUREA* L. E SUA APLICAÇÃO EM
UMA FORMULAÇÃO COSMÉTICA

FORTALEZA | CE

2018

PRISCYLLA DA SILVA GIFFONY

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA *IN VITRO* DO
EXTRATO DO CAULE DE *SPONDIAS PURPUREA* L. E SUA APLICAÇÃO EM UMA
FORMULAÇÃO COSMÉTICA

Monografia apresentada à Coordenação do curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Farmacêutica.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Tamara Gonçalves Araújo.

FORTALEZA | CE

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G388a Giffony, Priscylla da Silva.

Avaliação da atividade antioxidante e fotoprotetora in vitro do extrato de *Spondias purpurea* L e sua aplicação em uma formulação cosmética / Priscylla da Silva Giffony. – 2018.
40 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2018.
Orientação: Profa. Dra. Tamara Gonçalves Araújo.

1. *Spondias purpurea* L. 2. Antioxidante. 3. Fotoproteção. I. Título.

CDD 615

PRISCYLLA DA SILVA GIFFONY

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA *IN VITRO* DO
EXTRATO DO CAULE DE *SPONDIAS PURPUREA* L. E SUA APLICAÇÃO EM UMA
FORMULAÇÃO COSMÉTICA

Monografia apresentada à Coordenação do
curso de Farmácia da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção do
título de Farmacêutica.

Aprovada em ____ | ____ | ____.

BANCA EXAMINADORA

Nota:

Prof^ª. Dr^ª. Tamara Gonçalves Araújo (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Nota:

Prof. Dr. Josimar de Oliveira Eloy
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Nota:

Dr^ª. Alesandra Ricardo Nunes
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus pela minha vida e por ter me concedido a oportunidade de ter chegado até aqui. Sem Ele, nada disso seria possível.

À minha família, que é minha base. À minha mãe por seus conselhos, por me dar um ambiente onde minha única preocupação foi a minha formação. Ao meu pai, por sua torcida e ajuda, mesmo que distante. Às minhas irmãs, que são as paixões da minha vida. Não existo sem vocês. Obrigada por todo amor e carinho que recebo de vocês todos os dias, por todas as nossas conversas, pelas nossas risadas, por nossos momentos de descontração. Ao meu sobrinho, Rinaldy, que mudou minha casa e nossas vidas. Obrigada por me deixar feliz cada vez que vejo seu rostinho, por todas as vezes que você me faz rir com sua perspicácia e inteligência. Obrigada a vocês por todos os momentos felizes que me incentivaram de alguma maneira a continuar, mesmo quando não estava sendo fácil.

Aos meus amigos Alisson, Raquel e Caio. Vocês são a família que eu escolhi ter. Com certeza, teria sido mais difícil chegar aqui sem o apoio, ajuda e incentivo de vocês. Obrigada Alisson por me incentivar a cursar Farmácia e por me mostrar que isso seria possível. Você é um dos principais culpados por eu ter me tornado farmacêutica. Obrigada Raquel por seus conselhos e sua amizade quando eu mais precisava. Obrigada Caio por, mesmo distante, me apoiar e incentivar.

Ao meu amor, Marcelo Victor, que foi e é meu suporte. Não imagino minha vida sem você fazendo parte dela. Esses 5 anos não teriam sido os mesmos se não fosse por você. Obrigada pela nossa parceria, por nosso companheirismo. Obrigada por me ajudar a criar asas e alçar voo em busca dos meus sonhos. Obrigada por todo seu apoio, ajuda, torcida. Obrigada por me escolher todos os dias e por ter essa fé enorme em mim. Isso me ajuda a dar o melhor de mim sempre e em tudo o que faço.

Aos meus amigos de faculdade, em especial à Anna Carla, à Josiana, à Luanna e à Maria Emília. Vocês fizeram com que a faculdade fosse divertida, especial. Obrigada pela ajuda de vocês durante esse tempo, por colaborarem tanto na minha formação. Obrigada também pelos momentos de descontração que foram muito importantes quando a gente já não aguentava mais. Espero que nossa amizade dure ainda muitos anos.

À Prof^a. Dr^a Tamara Gonçalves, por ter aceitado me orientar por muito tempo e por todo o conhecimento transmitido. Obrigada pela paciência. Aprendi e me inspirei muito com a

senhora. E a todos os meus professores que me deram a base e o conhecimento necessário para que eu possa agora seguir essa caminhada.

“Nada te perturbe, nada te amedronte, tudo
passa, a paciência tudo alcança, a quem tem
Deus nada falta, só Deus basta.”

Santa Teresa d'Ávila

RESUMO

A *Spondias purpurea* L., conhecida também como seriguela, é uma árvore frutífera tropical, originária do México ou da América Central e bastante comum na região nordeste do Brasil. É fonte de antioxidantes ou compostos funcionais, como vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides. Apesar de ser uma planta bastante difundida no nordeste brasileiro, a atividade biológica associada à caracterização dos seus compostos ainda é pouco conhecida. Alguns estudos indicam a potente atividade antioxidante da fruta, mas existem poucos estudos sobre o perfil de compostos fenólicos relacionado à sua atividade fotoprotetora. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial antioxidante e fotoprotetor *in vitro* do extrato seco do caule da *Spondias purpurea* L. e sua incorporação em uma formulação. Foi determinado perfil espectrofotométrico de absorção do extrato e o mesmo apresentou pico em torno de 280nm, demonstrando absorção de energia na área do UVB. A atividade antioxidante do extrato foi realizada através do método fotocolorimétrico DPPH e foi obtida uma IC₅₀ de 6,25 µg/mL, mostrando, assim, um excelente potencial antioxidante do extrato. Uma emulsão O/A foi preparada a frio e foram utilizadas diferentes concentrações do extrato (0,2, 2,5, 5 e 10%). O FPS *in vitro* do extrato e das formulações foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur *et al.* (1986). O ensaio obteve como resultado um FPS de 14,37 para o extrato em estudo, mostrando uma atividade fotoprotetora satisfatória. Os valores de FPS das formulações obtidos não foram significativamente relevantes numa concentração da formulação de 0,2mg/mL, porém, na concentração de 2mg/mL, foi possível observar que todas as formulações, exceto a FBE0,2, obtiveram resultados significativos de FPS, demonstrando que, nessa concentração final de diluição, o extrato foi capaz de absorver a radiação UVB. Com os resultados obtidos, foi possível concluir que os componentes presentes no extrato de *Spondias purpurea* L. possuem características que o tornam adequado para incorporação em uma formulação cosmética multifuncional, inclusive formulações fotoprotetoras, nas quais o extrato atuaria como antioxidante devido à excelente atividade apresentada.

Palavras-chave: *Spondias purpurea* L. Antioxidante. Fotoproteção.

ABSTRACT

Spondias purpurea L., also known as seriguela, is a tropical fruit tree, native to Mexico or Central America and quite common in northeastern Brazil. It is a source of antioxidants or functional compounds, such as vitamins, phenolic compounds and carotenoids. Although it is a very widespread plant in the Brazilian northeast, the biological activity associated to the characterization of its compounds is still little known. Some studies indicate the potent antioxidant activity of the fruit, but there are few studies about the profile of phenolic compounds related to its photoprotective activity. Thus, the objective of this study was to evaluate the antioxidant and photoprotective potential *in vitro* of the dry extract of *Spondias purpurea* L. stem and its incorporation in a formulation. It was determined a spectrophotometric profile of absorption of the extract and it showed a peak around 280nm, demonstrating absorption of energy in the UVB area. The antioxidant activity of the extract was performed by the photocolometric method DPPH and an IC₅₀ of 6.25 µg/mL was obtained, showing an excellent antioxidant potential of the extract. An O/W emulsion was cold prepared and different concentrations of the extract (0.2, 2.5, 5 e 10%) were used. The *in vitro* SPF of the extract and of the formulations was determined by the spectrophotometric method developed by Mansur *et al.* (1986). The assay resulted in an SPF of 14.37 for the extract, showing satisfactory photoprotective activity. The SPF values of the formulations obtained were not significantly relevant at a concentration of 0.2mg/mL; however, in a concentration of 2mg/mL was possible to observe that all formulations, except FBE0.2, obtained meaningful results of SPF, demonstrating that at this final dilution concentration the extract was able to absorb UVB radiation. With the results obtained, it was possible to conclude that the components present in the extract of *Spondias purpurea* L. have characteristics the make it suitable for incorporation in a multifunctional cosmetic formulation, including photoprotective formulations, in which the extract would act as an antioxidant due to the excellent activity presented.

Keywords: *Spondias purpurea* L. Antioxidant. Photoprotection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01: Estrutura e função da pele.....	17
Figura 02: Espectro eletromagnético.....	18
Figura 03: Mecanismo de ação dos filtros químicos	20
Figura 04: Formulações desenvolvidas	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01: Espectro de varredura UV do extrato e do filtro químico	31
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Filtros solares aprovados pelo FDA.....	23
Tabela 02: Função do produto EE x i no cálculo do FPS.....	24
Tabela 03: Composição da formulação cosmética.	30
Tabela 04: Valores de FPS do extrato e do metoxicinamato de octila	33
Tabela 05: Valores de FPS obtidos nas formulações	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
A/O	Emulsão água/óleo
COLIPA	Comité de Liason des Associations Européennes de Industrie et la Parfumerie
DME _{np}	Dose Mínima Eritematosa na pele desprotegida
DME _p	Dose Mínima Eritematosa em uma pele protegida por um protetor solar
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	2,2-diphenil 1-picrylhydrazyl
FB	Formulação base
FBE _{0,2}	Formulação base com extrato a 0,2%
FBE _{2,5}	Formulação base com extrato a 2,5%
FBE ₅	Formulação base com extrato a 5%
FBE ₁₀	Formulação base com extrato a 10%
FBFQ	Formulação base com filtro químico
FBEF	Formulação base com extrato a 10% e filtro químico
FDA	Food and Drug Administration
FPS	Fator de Proteção Solar
FPUVA	Nível de proteção UVA
O/A	Emulsão óleo/água
OMC	Octil-metoxicinamato
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
ROS	Espécies reativas de oxigênio
q.s.p.	Quantidade suficiente para
TiO ₂	Dióxido de titânio
UV	Radiação ultravioleta
UVA	Radiação ultravioleta tipo A
UVB	Radiação ultravioleta tipo B
UVC	Radiação ultravioleta tipo C
ZnO	Óxido de zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

λ	Lambda
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
2.1	Pele e os efeitos da radiação solar	17
2.2	Fotoprotetores	20
2.2.1	<i>Filtros UVB</i>	21
2.2.2	<i>Filtros UVA</i>	22
2.3	Fator de proteção solar (FPS)	23
2.4	Atividade antioxidante aliada à fotoproteção.....	24
2.5	<i>Spondias purpurea L</i>	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	Objetivo geral	27
3.2	Objetivos específicos	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1	Obtenção do extrato de <i>Spondias purpurea L</i>	28
4.2	Determinação do perfil de absorção espectrofotométrico do extrato e do metoxicinamato de octila	28
4.3	Avaliação da atividade antioxidante do extrato	28
4.4	Determinação do FPS <i>in vitro</i> do extrato	29
4.5	Desenvolvimento de uma formulação cosmética e determinação do FPS <i>in vitro</i> ..	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1	Determinação do perfil de absorção espectrofotométrico do extrato e do metoxicinamato de octila	31
5.2	Avaliação da atividade antioxidante do extrato	32
5.3	Determinação do FPS <i>in vitro</i> do extrato	33
5.4	Desenvolvimento de uma formulação cosmética e determinação do FPS <i>in vitro</i> ..	34

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, mudanças no estilo de vida aumentaram significativamente a exposição humana à radiação solar. As radiações ultravioletas são responsáveis por alterações irreversíveis, que acabam levando a mutações no DNA (BARG *et al.*, 2014). A pele é repetidamente exposta à radiação ultravioleta do sol e essa radiação pode ocasionar desde vermelhidão e eritema à câncer de pele a longo prazo (MILLER *et al.*, 2017).

Embora a pele humana tenha diversos mecanismos de defesa contra as radiações solares, estes têm se mostrado insuficientes para uma proteção efetiva. Ao atingir a pele humana desprotegida, a radiação UV tem efeito cumulativo, acarretando em estresse oxidativo e, conseqüentemente, provocam um conjunto de reações químicas estruturais. Dessa forma, os protetores solares funcionam como uma barreira protetora, reduzindo a quantidade de radiação UV absorvida pela pele humana (BALOGH *et al.*, 2011).

Fotoprotetores são produtos de aplicação tópica em diferentes apresentações que contém, em sua formulação, ingredientes capazes de interferir na radiação solar, reduzindo seus efeitos deletérios. Os filtros ultravioletas são substâncias presentes nos fotoprotetores que apresentam a capacidade de interagir com a radiação incidente, através de três mecanismos básicos: reflexão, absorção e dispersão (SCHALKA e REIS, 2011).

As últimas décadas têm registrado um crescimento do interesse nos produtos sob o rótulo de “naturais”. Mediante esta tendência, cresce no mundo um mercado consumidor cada vez mais adepto das campanhas do chamado “consumo verde”, isto é, de produtos elaborados com base em ativos naturais (MIGUEL, 2011).

Dentre os compostos bioativos em plantas, estão os compostos fenólicos, um grupo de substâncias que tem, entre suas funções, ação antioxidante e fotoprotetora, através da absorção de raios ultravioleta (UV). Os extratos vegetais contendo compostos fenólicos podem ser incorporados em formulações cosméticas, podendo, assim, originar cosméticos inovadores (SILVA, 2015).

Spondias purpurea L., conhecida como seriguela, é uma árvore tropical da família *Anacardiaceae*, nativa do México, porém bastante difundida no Brasil. Possui um alto potencial comercial devido às suas qualidades sensoriais e nutricionais e seu baixo custo de produção. É uma planta que possui um alto teor de flavonoides, principalmente no epicarpo e na polpa da fruta, o que confere a ela uma alta capacidade antioxidante (VILLA-HERNANDEZ *et al.*, 2017).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo investigar a ação antioxidante e fotoprotetora do extrato seco do caule da *Spondias purpurea* L.

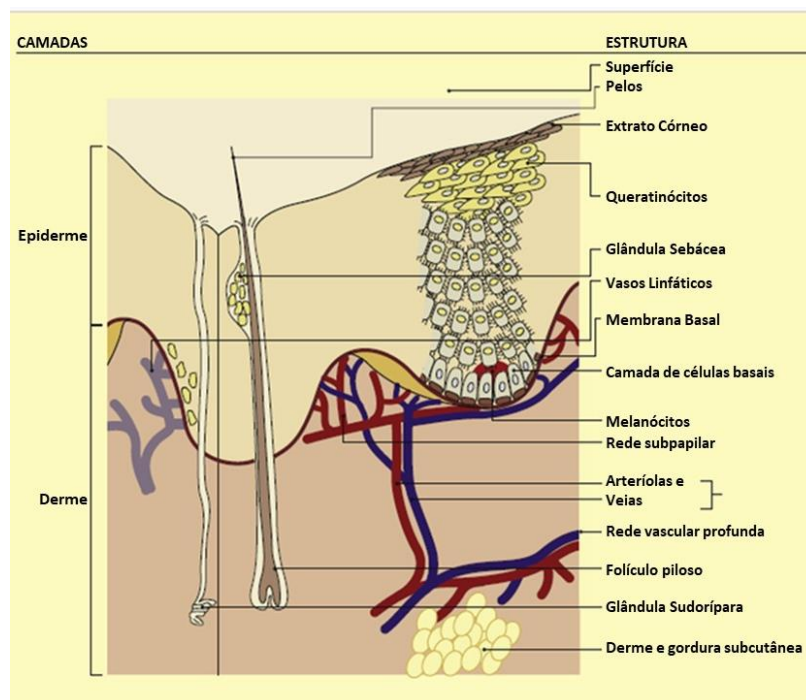
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Pele e os efeitos da radiação solar

A pele é o maior órgão do corpo humano, correspondendo a cerca de 10 a 16% do peso corporal. É composta, essencialmente, de duas camadas denominadas derme e epiderme. Devido à proximidade e comportamento reacional do tecido subcutâneo em diferentes processos patológicos, alguns autores a consideram uma terceira camada (BARCAUI *et al.*, 2015).

A epiderme é a camada mais externa da pele. É constituída por um epitélio escamoso estratificado terminalmente diferenciado, na qual o principal tipo de célula é o queratinócito, cuja principal função é a síntese de queratina, uma proteína responsável pela impermeabilização da pele, evitando, assim, perdas desnecessárias de água e protegendo o organismo contra agressões externas, como choques mecânicos, radiação solar, etc. (FIGURA 1) (VENUS, WATERMAN e McNAB, 2011).

Figura 1: Estrutura e função da pele



Fonte: Adaptado de VENUS, WATERMAN e McNAB, 2011

Também fazem parte da epiderme os melanócitos, células especializadas na produção de melanina, um pigmento de coloração marrom-escuro responsável por proteger o DNA das células epiteliais contra os danos causados pelos raios solares. A epiderme é dividida em quatro camadas principais, dependendo do estado de diferenciação dos

queratinócitos, sendo elas: a camada basal, a camada espinhosa, a camada granular e a camada córnea (VENUS, WATERMAN e McNAB, 2011).

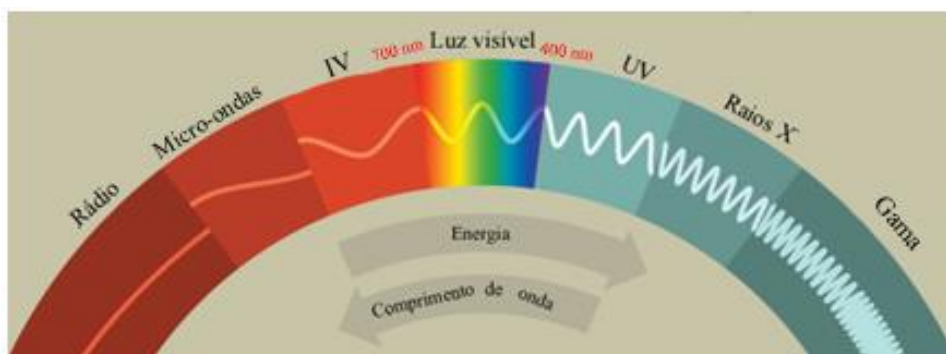
A epiderme é separada da derme pela zona de membrana basal. Esta região da pele é composta por uma rede de macromoléculas que ligam os filamentos intermediários de queratina dos queratinócitos basais com fibras colágenas na superfície da derme. A principal função das proteínas e glicoproteínas presentes nessa zona é fornecer a adesão entre a epiderme e a derme (LAI-CHEONG e McGRATH, 2017).

A derme é dividida em duas camadas principais: a derme papilar que está em contato com a zona de membrana basal e é ricamente abastecida com vasos sanguíneos e terminações nervosas, e a derme reticular que é a camada em contato com o tecido subcutâneo. A derme é constituída por componentes intersticiais (fibras colágenas, elásticas, tecido), celulares (fibroblastos, mastócitos, linfócitos, células dendríticas, histiócitos), vasos sanguíneos, linfáticos e nervos sensoriais (LAI-CHEONG e McGRATH, 2017).

O tecido subcutâneo está localizado mais internamente e é constituído por lipócitos. Em indivíduos não-obesos, cerca de 80% de toda a gordura corporal está localizada no tecido subcutâneo. A gordura também tem função endócrina, gerando hormônios, como a leptina, que contribui para a regulação do apetite e controle da energia metabólica (BARCAUI *et al.*, 2015).

A pele é o principal alvo das agressões ambientais, em especial, da exposição ao sol. A luz solar é composta por espectro de radiação eletromagnética nos seguintes comprimentos de onda: radiação ultravioleta (UV) – 200 a 400nm; visível – 400-780nm e infravermelho - >780nm (FIGURA 2) (BERNERD, MARIONNET e DUVAL, 2012).

Figura 2: Espectro eletromagnético



Fonte: BERNERD, MARIONNET e DUVAL, 2012

A radiação ultravioleta é composta de energia eletromagnética com comprimentos de onda de 400 a 200nm. O espectro ultravioleta é dividido em UVC (200 a 290nm), UVB (290 a 320nm) e UVA (320 a 400nm) (BACCARIN *et al.*, 2015).

A radiação UVC é filtrada pela camada de ozônio antes de atingir a Terra. É a mais energética e possui maior potencial para causar dano biológico, mesmo com exposições muito curtas. É altamente mutagênica e pode causar danos nas moléculas de DNA (NICHOLS e KATIYAR, 2010).

A radiação UVA compreende mais de 95% da radiação solar que nos alcança. É a mais responsável pelo fotoenvelhecimento, cujos primeiros sinais incluem rugas, flacidez, pigmentação desigual, ressecamento, etc. Penetra profundamente na epiderme e derme e é capaz de excitar diretamente a molécula de DNA. Presume-se que grande parte de sua ação mutagênica e carcinogênica é mediada por espécies reativas de oxigênio geradas após uma exposição à essa radiação, podendo mediar danos às proteínas celulares, lipídios e prejudicar o sistema imunológico (NICHOLS e KATIYAR, 2010; BACCARIN *et al.*, 2015).

A radiação UVB é responsável por danos devidos a queimaduras solares (eritema e edema), indução de estresse oxidativo e é altamente genotóxica. Provoca a produção de radicais livres e induz uma diminuição de antioxidantes da pele, alterando a capacidade da pele de se proteger contra os radicais livres gerados após a exposição ao sol (PATTISON; DAVIES, 2006 apud BALOGH *et al.*, 2011). A absorção direta de fótons UVB leva ao rompimento do DNA e, se não for reparado, pode iniciar a fotocarcinogênese. É menos penetrante do que a UVA, atingindo, na maioria das vezes, apenas as células da camada basal da epiderme, possivelmente, alterando a proliferação, a diferenciação e o metabolismo dessas células (BACCARIN *et al.*, 2015).

A radiação UV é absorvida por diferentes cromóforos na pele, como melanina, DNA, RNA, proteínas, tirosina, triptofano, entre outros. O DNA é um dos principais alvos da radiação UV e, portanto, pode sofrer mutações que, posteriormente, pode resultar em transformações malignas da célula (BALOGH *et al.*, 2011).

Ao atingir a pele desprotegida, em efeito cumulativo, a radiação UV provoca reações químicas e morfológicas. Pode ocorrer formação de espécies reativas de oxigênio e alterações histoquímicas importantes, como espessamento da camada espinhosa e retificação da junção dermoepidérmica (GONZALEZ; LORENTE; CALZADA, 2008). A exposição à radiação solar pode produzir desde simples inflamações até graves queimaduras. Podem ainda

ocorrer mutações genéticas, comportamentos anormais das células e alterações crônicas na pele, incluindo vários tipos de câncer (LORCA, 2012).

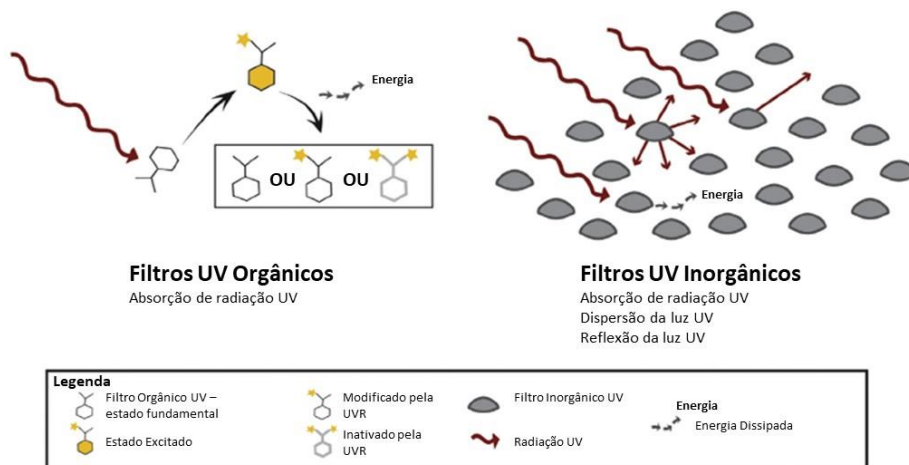
Assim, a proteção da pele contra a exposição solar excessiva é essencial para evitar danos. A aplicação de preparações dermatológicas contendo filtros solares é comumente recomendado (BACCARIN *et al.*, 2015).

2.2 Fotoprotetores

Os fotoprotetores ou protetores solares são preparações cosméticas de defesa frente aos efeitos danosos da radiação UV. Podem ser encontrados na forma de loções, óleos, géis, emulsão óleo em água (O/A), emulsão água em óleo (A/O), bastões, aerossóis, entre outros (GONÇALVEZ; ALMEIDA; LOUCHARD, 2017). As loções, geralmente, apresentam uma menor proteção, pois formam um filme protetor irregular e podem provocar o ressecamento da pele. Os óleos apresentam uma proteção maior que as loções, porém, geralmente, não atingem altos valores de FPS. As emulsões são as formas de apresentação com maior proteção e, geralmente, são as preferidas pelos consumidores, pois se espalham com maior facilidade na pele (BALOGH *et al.*, 2011).

Os fotoprotetores atuam de maneira preventiva no tecido cutâneo. Eles contêm filtros, ou seja, moléculas ou complexos moleculares que podem absorver, refletir ou dispersar a radiação UV. Podem ser classificados como químicos, ou seja, moléculas fotoestáveis que possuem grupos cromóforos que absorvem a radiação, ou como físicos, atuando como uma barreira mecânica, impedindo a penetração da radiação na pele (FIGURA 3) (BARON, KIRKLAND e DOMINGO, 2008).

Figura 3: Mecanismo de ação dos filtros ultravioletas



Fonte: Adaptado de MANCEBO, HU e WANG, 2014

Os filtros solares inorgânicos, ou físicos, são compostos metálicos que têm como função proteger a pele refletindo ou dispersando a radiação UV. Os mais utilizados são o óxido de zinco (ZnO) e o dióxido de titânio (TiO₂). Estes filtros apresentam baixo potencial de irritação e não são absorvidos de forma sistêmica. Por isso, são considerados mais seguros e indicados para indivíduos com histórico de alergias, assim como para peles sensíveis e de uso infantil (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012). Em comparação com os filtros orgânicos, esses filtros são menos susceptíveis à degradação frente à exposição UV. Contudo, tendem a deixar uma coloração opaca e esbranquiçada na pele após a aplicação, o que pode favorecer o surgimento de cravos e espinhas, além de, eventualmente, serem transferidos para a vestimenta, comprometendo a eficácia fotoprotetora (BALOGH *et al.*, 2011).

Os filtros solares orgânicos, ou químicos, exercem seus efeitos fotoprotetores absorvendo fótons de alta energia da radiação UV. A energia absorvida é transmitida aos elétrons, que saltam para o estado excitado e, ao retornar ao estado fundamental, liberam a energia na forma de calor ou luz em comprimentos de onda mais longos, transformando-a em radiações de energias menores e inofensivas aos seres humanos. Podem causar alguns efeitos adversos, como irritação da pele e reações alérgicas de contato. São divididos em filtros UVA, UVB e filtros de amplo espectro, que exercem proteção contra as radiações UVA e UVB (MANCERO, HU e WANG, 2014).

2.2.1 Filtros UVB

O ácido p-aminobenzoico foi o primeiro filtro UV disponível nos Estados Unidos, mas teve muitas propriedades indesejáveis. Era conhecido por seu potencial para causar fotoalergia, dermatite de contato e manchas na roupa. Novas gerações de filtros orgânicos melhoraram os perfis de segurança e sensoriais e proporcionaram cobertura alargada para a gama UVA (MANCERO, HU e WANG, 2014).

Dentro da classe dos cinamatos, existem dois tipos de compostos: o octilmetoxicinamato (OMC) e o 2-etoxietil-*p*-metoxicinamato. O OMC é o filtro mais potente, seu perfil de absorção se estende de 270 a 328nm com pico de absorção em 320nm. Uma vantagem dessa classe de filtros UVB em formulações fotoprotetoras são sua propriedade de resistência à água e baixo potencial de irritação da pele. Uma grande desvantagem é a incompatibilidade com a avonbenzona, um filtro UVA amplamente utilizado. A combinação dos cinamatos com a avonbenzona é fotolável e compromete a proteção UV do produto como um todo (WANG, BALAGULA e OSTERWALDER, 2010).

Os salicilatos são outro grupo de filtros UVB disponíveis. Eles filtram radiação UV de 290 a 315nm. São considerados filtros UVB fracos e são necessárias altas concentrações para atingir um FPS adequado. Entretanto, existem algumas vantagens em sua utilização, como a não penetração do estrato córneo e baixo potencial de sensibilização. São insolúveis em água, portanto, são capazes de manter sua eficácia após transpiração e exposição à água. Estes compostos também podem desempenhar um papel de estabilizar e prevenir a fotodegradação de outros filtros, como a oxibenzona e a avobenzona (WANG, BALAGULA e OSTERWALDER, 2010).

2.2.2 Filtros UVA

As benzofenonas são um grupo de cetonas aromáticas com um amplo espectro de cobertura UV. A oxibenzona (benzofenona-3) é um membro desta classe de filtros. Tem um perfil de absorção que abrange a faixa de 288 a 325nm. Oferece principalmente proteção contra os raios UVA II. Pode causar alergias e dermatites fotoalérgica e de contato (SHAATH, 2010).

A avonbenzona tem um perfil de absorção que varia entre 310 a 400nm. Em geral, o pico de absorção é em torno de 360nm. Apesar de sua eficácia e amplo espectro, a avonbenzona é fotoestável, com fotodegradação de 50% a 90% das moléculas após uma hora de exposição aos raios UV. Para aumentar a fotoestabilidade da avonbenzona, pode-se utilizar filtros químicos, como o octocrileno, e outros compostos, como o 2,6-naftalato de dietilhexilo (SHAATH, 2010).

O ecamsule é um filtro UVA com perfil de absorção variando entre 290 a 390nm. Seu pico de absorção é em torno de 345nm. É fotoestável, resistente à água e possui baixa absorção sistêmica (WANG, BALAGULA e OSTERWALDER, 2010).

A lista de filtros solares aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA) pode ser visualizada na Tabela 1.

Tabela 1: Filtros solares aprovados pelo FDA

ATIVOS	CONCENTRAÇÃO MÁXIMA	PICO DE ABSORÇÃO	ESPECTRO DE AÇÃO UV
Filtros Orgânicos			
Filtros UVA			
Oxibenzona	6%	288, 325	UVB, UVA II
Sulisobenzona	10%	366	UVB, UVA II
Dioxibenzona	3%	352	UVB, UVA II
Avobenzona	3%	360	UVA I
Meradimato	5%	340	UVA II
Ecamsule	10%	345	UVB, UVA
Filtros UVB			
PABA	15%	283	UVB
Cinoxato	3%	289	UVB
Octinoxato	7,50%	311	UVB
Octisalato	5%	307	UVB
Homosalato	15%	306	UVB
Salicilato de trolamina	12%		UVB
Octocrileno	10%	303	UVB, UVA II
Filtros Inorgânicos			
Dióxido de titânio	25%		UVB, UVA
Óxido de zinco	25%		UVB, UVA

Fonte: Adaptado de WANG, BALAGULA e OSTERWALDER, 2010

2.3 Fator de proteção solar (FPS)

De acordo com a RDC nº 30 de 1 de junho de 2012 (ANVISA, 2012), FPS é definido como o valor obtido pela razão entre a dose mínima eritematosa em uma pele protegida por um protetor solar (DMEp) e a dose mínima eritematosa na mesma pele, quando desprotegida (DMEnp). Essa determinação deve ser realizada utilizando metodologia *in vivo*, adotada pela Food and Drug Administration (FDA) ou pela Comitá de Liason des Associations Européenes de Industrie et la Parfumerie (COLIPA), com voluntários sadios e com fototipos I, II e III (pele muito sensível, pele sensível e normal) (VELASCO *et al.*, 2011).

Segundo a mesma resolução, todos os protetores solares devem apresentar FPS mínimo de 6, além de ser necessária a comprovação do nível de proteção UVA (FPUVA) e este deve ser, no mínimo, 1/3 do valor do FPS declarado na rotulagem.

Embora útil e precisa, esse tipo de determinação é complexa, demorada e cara. Em consequência disso, muitos esforços têm sido empregados com o objetivo de desenvolver metodologias *in vitro* para a avaliação da eficácia protetora de compostos de proteção solar (DUTRA *et al.*, 2004).

Mansur *et al.* (1986, apud DUTRA *et al.*, 2004) desenvolveu um método *in vitro* que utiliza espectrofotometria UV e uma equação matemática para a determinação do FPS.

$$\text{FPS} = \text{FC} \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Onde: FC = fator de correção (igual a 10), $EE(\lambda)$ = efeito eritematogênico da radiação solar em cada comprimento de onda λ , $i(\lambda)$ = intensidade da luz solar no comprimento de onda e $\text{Abs}(\lambda)$ = leitura espectrofotométrica da absorvância da amostra em cada comprimento de onda. Os valores de $EE \times i$ são constantes (TABELA 2).

Tabela 2 – Função do produto $EE \times i$ no cálculo do FPS

COMPRIMENTO DE ONDA	EE x i
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

Fonte: DUTRA *et al.*, 2004

2.4 Atividade antioxidante aliada à fotoproteção

Os danos na pele causados pela radiação UV também podem resultar no aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). A formação das espécies reativas de oxigênio durante a exposição solar e a consequente formação do estresse oxidativo estão associados a processos de carcinogênese. O controle da formação dessas espécies pela radiação UV é importante para a prevenção dos efeitos deletérios da exposição solar, principalmente a prevenção do câncer de pele. Assim, a utilização de compostos antioxidantes é uma estratégia para diminuir esses danos provocados pelo sol (GUARATINI *et al.*, 2009).

Os compostos polifenólicos são parte importante da dieta humana. Alguns deles tem propriedades fotoprotetoras e possuem atividade antioxidante, anti-inflamatória e anticarcinogênica (GONZALEZ; LORENTE; CALZADA, 2008). Alguns estudos demonstram que os benefícios atribuídos aos compostos fenólicos se devem à sua capacidade de reagir com ROS, às suas habilidades quelantes e à inibição de enzimas que colaboram para o efeito oxidativo, como lipoxigenases, ciclooxigenases, proteínas quinase, entre outros. (FLAMINI *et al.*, 2013).

Compostos fenólicos, como os taninos, demonstraram eficácia em inibir os processos de peroxidação lipídica de fosfolipídios de membrana e em inibir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade. Seus efeitos citoprotetores são difundidos aos fibroblastos, queratinócitos, células endoteliais humanas, dentre outras (MARTÍNEZ-FLÓRES *et al.*, 2002).

A quercetina é, dentre os flavonoides, a que possui a maior atividade antioxidante. Formulações tópicas contendo quercetina inibiram os danos na pele de camundongos provocados pela radiação UVB (GONZALEZ; LORENTE; CALZADA, 2008). Segundo Angeli (2007), uma emulsão não iônica contendo quercetina, aumentou a inibição da mieloperoxidase e a secreção/atividade de proteinases, indicando sua possível utilização em formulações tópicas para a prevenção de danos oxidativos.

A romã é uma rica fonte de 2 tipos de compostos polifenólicos: antocianidinas e taninos hidrolisáveis. Possui forte propriedades antioxidante e anti-inflamatória. Segundo Gonzalez, Lorente e Calzada (2008), a romã protege contra os efeitos adversos da radiação UVB e contra os efeitos deletérios da radiação UVA.

Extensivamente, pesquisas de novas moléculas fotoestáveis para a utilização em protetores solares são realizadas, observando-se um interesse crescente para o desenvolvimento de filtros provenientes de produtos naturais. A escolha dos novos ativos envolve, principalmente, a capacidade de absorção da luz ultravioleta associada à atividade antioxidante (GUARATINI *et al.*, 2009).

Por conter princípios ativos capazes de absorver os raios UV e de neutralizar radicais livres produzidos após a exposição ao sol, os extratos vegetais estão sendo largamente utilizados em formulações fotoprotetoras, podendo intensificar a proteção final do produto, produzindo, assim, protetores solares cada vez mais eficientes e sustentáveis (SARAF E KAUR, 2010).

2.5 *Spondias purpurea* L

A família *Anacardiaceae* compreende entre 60-70 gêneros e cerca de 600 espécies distribuídas em zonas tropicais, subtropicais e temperadas, conhecida pela importância econômica e propriedades farmacêuticas. *Spondias* é um gênero tropical dessa família com 14 a 20 espécies distribuídas mundialmente e, dentre estas, de 4 a 7 espécies são encontradas nas Américas (SILVA *et al.*, 2014).

As espécies que merecem destaque são cajá (*Spondias mombin* L.), seriguela (*Spondias purpurea* L.), umbu (*S. tuberosa*) e cajá-manga (*S. dulcis*). Devido à utilização comercial desses frutos, já existem estudos que abordam as características de cultivo, assim como as características físico-químicas, estabilidade e constituintes químicos (SANTOS *et al.*, 2010 apud SILVA *et al.*, 2014). Somado ao uso comercial, existem, também na literatura,

estudos que abordam o uso popular de espécies deste gênero no tratamento de desordens infecciosas e como abortivo ou tônico (ALMEIDA *et al.*, 2010).

Gachet (2010) descreve o uso das cascas da espécie *purpurea* contra doenças parasitárias, como a leishmaniose, na medicina popular do Equador. O estudo comprovou a atividade do extrato metanólico contra o *Trypanosoma brucei rhodesiense* utilizando a técnica de microtitulação.

A *Spondias purpurea* L., conhecida popularmente como seriguela, é uma árvore frutífera tropical, originária do México ou da América Central e bastante comum na região nordeste do Brasil. É uma árvore de porte médio, podendo atingir até sete metros. É uma drupa elipsoidal de cor amarelada, ou mesmo avermelhada quando madura, com comprimento entre 2,5 a 5 centímetros (SILVA *et al.*, 2014). As frutas são fonte de antioxidantes ou compostos funcionais, como vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides e estes antioxidantes são importantes na redução de enfermidades degenerativas, principalmente do tipo cardiovascular, diabetes e alguns tipos de câncer (ALVAREZ-VARGAS *et al.*, 2017).

Das cascas desta espécie foram extraídos e identificados ácidos fenólicos e flavonol-Oglicosilados, totalizando 21 compostos, dentre eles, o O-glicosídeos de quercetina, canferol, canferídeo e raminetina, o que poderia explicar o uso da fruta e de outras partes da planta no tratamento de enfermidades, como diarreia, úlceras, disenteria, inchaços, além da ação antimicrobiana do seu extrato metanólico (ENGELS *et al.*, 2012).

Apesar de ser uma planta bastante difundida no nordeste brasileiro, a atividade biológica associada à caracterização dos seus compostos ainda é pouco conhecida. Alguns estudos indicam a potente atividade antioxidante da fruta, mas existem poucos estudos sobre o perfil de compostos fenólicos relacionado à sua atividade fotoprotetora (SILVA, 2015).

Neste sentido, pesquisas com a espécie *Spondias purpurea* L. são necessárias para que se possa conhecer seu potencial fotoprotetor.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial antioxidante e fotoprotetor *in vitro* do extrato seco do caule da *Spondias purpurea* L. e sua incorporação em uma formulação.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar o perfil espectrofotométrico de absorção do extrato e do metoxicinamato de octila (padrão);
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato e comparar com a vitamina c (padrão);
- Determinar o Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* do extrato em estudo;
- Obter uma formulação cosmética, incorporando o extrato em diferentes concentrações e determinar o FPS *in vitro* das formulações.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção do extrato de *Spondias purpurea* L

O extrato seco foi cedido pela professora Nágila Maria Pontes Silva Ricardo (Departamento de Química Orgânica e Inorgânica - Universidade Federal do Ceará). O mesmo foi obtido por maceração durante 4 dias em solução etanólica na proporção 70:30 (etanol/água) (v/v).

4.2 Determinação do perfil de absorção espectrofotométrico do extrato e do metoxicinamato de octila

Para a determinação do perfil espectrofotométrico de absorção, foi utilizado um método adaptado de Munhoz *et al.* (2012). O extrato seco foi solubilizado em água e o filtro químico em etanol, ambos na concentração de 0,02mg/mL, e realizada varredura entre os comprimentos de onda de 200 a 400nm, utilizando-se espectrofotômetro (MOD. GÊNESYS 10S UV-Vis) para verificar a absorção nas regiões ultravioleta A, B e C (UVA, UVB e UVC). Foram utilizados água e etanol como branco e o experimento foi realizado em triplicata.

4.3 Avaliação da atividade antioxidante do extrato

A atividade antioxidante do extrato de seriguela foi realizada através do método fotolorimétrico DPPH (2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl) adaptado de Deuschle *et al.* (2015) que mede a capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH•.

O método baseia-se na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante ou espécie radicalar, o DPPH, de coloração púrpura, é reduzido a difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo ser a mesma monitorada pelo decréscimo da absorbância (NASCIMENTO *et al.*, 2011).

Amostras do extrato foram diluídas em etanol e obtidas soluções com concentrações de 1, 5, 10, 25, 50, 125 e 250 µg/mL. Também foi preparada uma solução de DPPH a 0,3mM. Após preparadas as amostras, 1mL da solução de DPPH 0,3mM foi adicionado a 2,5mL da solução do extrato em cada concentração e deixadas em repouso ao abrigo da luz. Passados 30 minutos, as soluções foram lidas em triplicata em espectrofotômetro (MOD. GÊNESYS 10S UV-Vis) no comprimento de onda de 518nm. Foi utilizada uma solução contendo 2,5mL de etanol e 1mL de solução DPPH 0,3mM como controle negativo e etanol foi usado como branco.

A atividade antioxidante foi calculada de acordo com a equação:

$$\% \text{ atividade antioxidante} = \frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \times 100$$

onde:

A_{amostra} : absorbâncias das amostras;

A_{controle} : absorbância da solução de DPPH com etanol.

A concentração do extrato ($\mu\text{g/mL}$) necessária para atingir 50% de atividade sequestrante de radicais DPPH (IC_{50}) foi calculada a partir do gráfico de % (atividade antioxidante) contra a concentração da amostra.

4.4 Determinação do FPS *in vitro* do extrato

O FPS *in vitro* foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur *et al.* (1986) e adaptado por Costa *et al.* (2015). Essa metodologia de determinação do FPS é simples e se baseia na preparação de uma solução com solvente apropriado e concentração conhecida. Assim sendo, a amostra foi solubilizada em água na concentração de 0,2mg/ml e suas absorbâncias foram medidas em comprimentos de onda definidos (290, 295, 300, 305, 310, 315 e 320nm) utilizando espectrofotômetro (MOD. GÊNESYS 10S UV-Vis).

As análises foram realizadas em triplicadas para cada comprimento de onda e o FPS foi calculado utilizando a equação $\text{FPS} = \text{FC} \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$, onde:

FC = fator de correção (igual a 10); $EE(\lambda)$ = efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda λ ; $I(\lambda)$ = intensidade da luz solar no comprimento de onda λ ; $\text{Abs}(\lambda)$ = leitura espectrofotométrica da absorbância da solução da preparação no comprimento de onda (λ) .

Os valores de $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ são constantes e foram apresentados na Tabela 1.

4.5 Desenvolvimento de uma formulação cosmética e determinação do FPS *in vitro*

Uma emulsão O/A foi preparada a frio e foram utilizadas diferentes concentrações do extrato (0.2, 2.5, 5 e 10%). A composição da formulação foi descrita na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição da formulação cosmética

Matérias-primas	Quantidades
Carbopol	0,8%
Propilenoglicol	2%
Tween 80	1%
Palmitato de isopropila	3%
Metoxicinamato de octila	7,5%
Extrato seco	0,2, 2,5, 5, 10%
AMP	q.s.p.
Solução de parabenos	0,05%
Água	q.s.p.

Fonte: elaborada pelo autor.

O carbopol foi triturado utilizando-se gral e pistilo e, em seguida, adicionado lentamente à água. Após 30 minutos de hidratação, sob agitação em agitador mecânico (MOD. FISATOM 713S-115/230V) foram adicionadas as demais matérias-primas. Foram preparadas 7 formulações: formulação base (FB), base e extrato 0,2% (FBE0,2), base e extrato 2,5% (FBE2,5), base e extrato 5% (FBE5), base e extrato 10% (FBE10), base e filtro químico (FBFQ) e base + extrato 10% + filtro químico (FBEF).

Para a determinação do FPS *in vitro* das formulações, foi utilizado método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur *et al.* (1986) e adaptado por Silva *et al.* (2016).

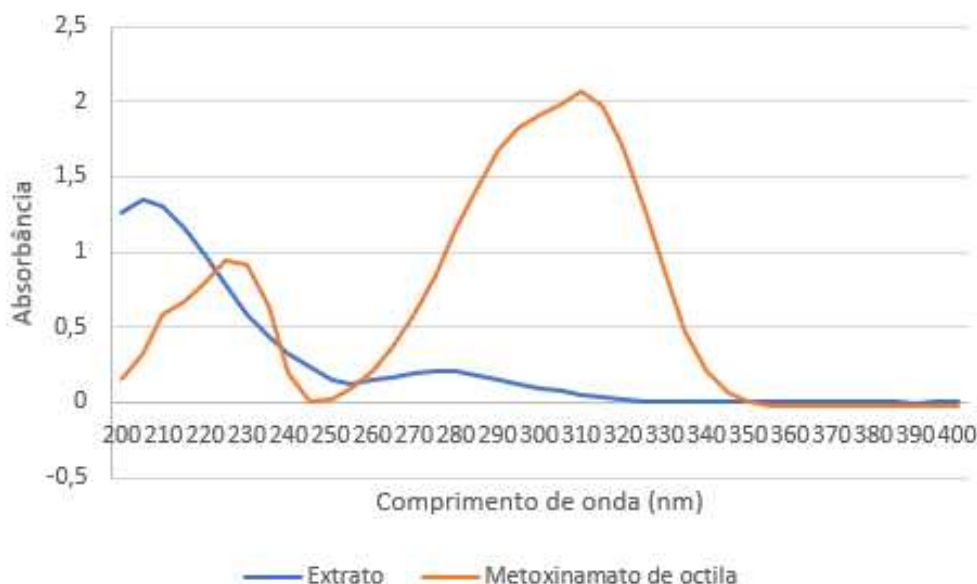
As amostras foram solubilizadas em água na concentração de 0,2mg/mL e 2mg/mL e suas absorbâncias foram medidas em comprimentos de onda definidos (290, 295, 300, 305, 310, 315 e 320nm) utilizando espectrofotômetro (MOD. GÊNESYS 10S UV-Vis). As análises foram realizadas em triplicadas para cada comprimento de onda e o FPS foi calculado segundo a mesma equação utilizada na determinação do FPS *in vitro* do extrato. A formulação FB foi utilizada como branco na realização do teste espectrofotométrico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação do perfil de absorção espectrofotométrico do extrato e do metoxicinamato de octila

De acordo com Violante *et al.* (2009), a composição química do produto natural e, conseqüentemente, sua atividade em absorver o espectro ultravioleta são fatores que determinam a sua eficácia como fotoprotetor. Assim, iniciou-se a avaliação da atividade fotoprotetora com a determinação do perfil de absorção do extrato através da varredura espectrofotométrica. O Gráfico 1 apresenta o perfil da varredura do extrato seco e do metoxicinamato de octila.

Gráfico 1: Espectro de varredura UV do extrato e filtro químico



Fonte: elaborada pelo autor

De acordo com o espectro obtido, foi possível observar que o extrato possui uma maior absorção na região do UVC, enquanto que o filtro químico possui uma absorção maior na região do UVB. Foi possível verificar também que, apesar do extrato absorver na região do UVB, essa absorção foi menor do que a observada no metoxicinamato de octila, indicando que o extrato possui uma menor capacidade fotoprotetora quando comparado ao filtro químico. O pico em torno de 280nm observado no espectro do extrato em estudo demonstra absorção de energia por agentes cromóforos na área do UVB. Segundo Souza *et al.* (2005), extratos de plantas que contém flavonoides são capazes de absorver a luz ultravioleta e o espectro de absorção de um flavonoide mostra, em geral, picos de absorção entre 240-280nm, demonstrando, assim, a possibilidade de uso de extratos contendo este metabólito como filtros

em preparações fotoprotetoras. Estudos obtidos por Silva (2015) e por Silva *et al.* (2016) confirmaram que a espécie *Spondias purpurea* L. contém uma elevada quantidade de compostos fenólicos correspondentes à classe dos flavonoides. Assim, o perfil de absorção do extrato em estudo mostrou um indício da sua capacidade em proporcionar proteção solar.

5.2 Avaliação da atividade antioxidante do extrato

Entre os ensaios que medem a capacidade de eliminação de radicais livres, o DPPH (2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl) é um dos mais utilizados. Durante este teste, o radical cromógeno roxo é reduzido por compostos antioxidantes ao hidrazina, de cor amarelo (MUSA, ABDULLAH e AL-HAIQI, 2016).

Entre os principais compostos com atividade antioxidante presentes nas frutas e vegetais estão as vitaminas, como C e E, os carotenoides, clorofilas, e uma variedade de antioxidantes fitoquímicos, como compostos fenólicos, glicosídeos e flavonoides. A vitamina C proporciona proteção contra a oxidação no meio aquoso da célula devido ao seu alto poder redutor. Os polifenóis são substâncias com grande poder de neutralizar as moléculas de radicais livres (COUTO e CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

O teste obteve como resultado uma IC_{50} de 6,25 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato em estudo e de 3 $\mu\text{g/mL}$ para a vitamina C, demonstrando, assim, o excelente potencial antioxidante do extrato de seriguela. Considerando que a vitamina C é, conhecidamente, um poderoso antioxidante, o que justifica seu menor IC_{50} , o resultado obtido mostrou uma excelente atividade antioxidante do extrato, pois uma concentração muito pequena foi capaz de sequestrar 50% do radical DPPH existente.

A excelente atividade antioxidante apresentada pode ser justificada pelo alto conteúdo de compostos fenólicos presentes na seriguela. Silva (2015) verificou em seu estudo que a espécie *Spondias purpurea* L. possui uma quantidade de compostos fenólicos elevada e que, cerca de 10%, corresponde à classe dos flavonoides. Segundo Burque *et al.* (2015), atribui-se a atividade antioxidante dos vegetais à presença de compostos fenólicos e que esses componentes podem atuar como agentes redutores, sequestradores de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores do oxigênio singleto.

Silva (2015), num estudo sobre a atividade antioxidante das cascas da seriguela, obteve como resultado uma IC_{50} de 27,11 $\mu\text{g/mL}$, mostrando um resultado quatro vezes inferior ao obtido neste estudo.

Silva (2012), ao avaliar a atividade antioxidante do extrato aquoso das folhas do cajá-umbu (*Spondias sp.*), obteve uma IC₅₀ de 132,62 µg/mL, demonstrando a superioridade do potencial antioxidante do extrato da seriguela quando comparado ao do cajá-umbu.

Vieira *et al.* (2011), ao estudar a atividade antioxidante do extrato aquoso da polpa do cajá (*Spondias mombin*), obtiveram como resultado uma IC₅₀ de 535,53 µg/mL, resultado também muito inferior ao obtido com o extrato de seriguela.

5.3 Determinação do FPS *in vitro* do extrato

O FPS *in vitro*, realizado por espectrofotometria, é um número que avalia o filtro solar ou a substância em estudo de acordo com a altura, largura e localização da sua curva de absorção dentro do espectro do ultravioleta (MANSUR *et al.*, 1986 apud VIOLANTE *et al.*, 2009). Apesar de ser um teste *in vitro*, a metodologia desenvolvida por Mansur é amplamente utilizada, pois ela apresenta uma boa correlação com os testes *in vivo*, já que relaciona a absorbância da substância em questão com o efeito eritematígeno da radiação e a intensidade da luz em comprimentos de ondas do espectro específico da região UVB (SILVA *et al.*, 2016).

O resultado do FPS obtido do extrato e do metoxicinamato de octila pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de FPS do extrato e do metoxicinamato de octila

Amostra	FPS
Extrato	14,37
Metoxicinamato de octila	21,47

Fonte: elaborada pelo autor

O ensaio mostrou uma atividade fotoprotetora satisfatória do extrato em estudo, pois, de acordo com a RDC 30 (ANVISA, 2012) apenas FPS igual ou superior a 6 é permitido para uso em produtos cosméticos com atividade fotoprotetora. O FPS obtido na solução contendo metoxicinamato de octila mostrou uma atividade fotoprotetora superior à do extrato, o que pode explicado pela maior absorção observada na região UVB.

Andrade (2015), num estudo que avaliou a capacidade fotoprotetora de espécies medicinais, obteve como resultado um FPS de 0,25 para o extrato hidroalcoólico da casca do caju e um FPS de 0,26 para o extrato hidroalcoólico da casca do umbu, resultado muito inferior ao obtido no extrato de seriguela, demonstrando o excelente potencial fotoprotetor do extrato em estudo.

Medina, Louchard e Gonçalves (2015) analisaram o FPS do extrato etanólico das folhas de murici e obtiveram um resultado de 1,44, resultado também muito inferior ao obtido com o extrato de seriguela.

Alguns estudos demonstraram que as plantas que absorvem na região ultravioleta apresentam diferentes moléculas em sua composição, como flavonoides, antraquinonas, alcaloides e polifenóis (SAIJA *et al.*, 2000, SOUZA *et al.*, 2005, VIOLANTE *et al.*, 2009, MANSUR *et al.*, 2016) e estas podem ser responsáveis por sua atividade fotoprotetora.

Estudo realizado por Silva (2015), demonstrou a presença de taninos e quercetina na casca da seriguela. Segundo Svobodova, Walterova e Vostalova (2006), os taninos são potentes antioxidantes que protegem as células contra os radicais livres provenientes da exposição aos raios ultravioleta. Os mesmos autores citaram que taninos hidrolisáveis reduziram a formação de peróxido de hidrogênio e a incidência de tumores em pele de ratos.

Segundo Saewan e Jimtaisong (2013), a quercetina é um potente antioxidante devido à quantidade de grupamentos hidroxila substituídos em sua molécula. De acordo com os autores, este composto protege contra as radiações UV, além de eliminar espécies radicalares.

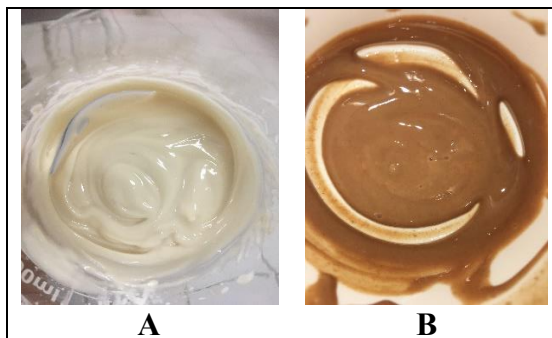
Solovchenko e Schmitz-Eiberger (2003) demonstraram a presença da quercetina glicosilada no epicárpio de maçãs e que esse composto contribuiu positivamente para a proteção UVB dessas frutas.

A espécie *S. purpurea* L contém compostos naturais capazes de absorver raios ultravioleta que demonstraram excelentes resultados no teste *in vitro* para a determinação do FPS. Assim, o extrato seco do caule da siriguela poderia ser considerado como um produto fotoprotetor potencial.

5.4 Desenvolvimento de uma formulação cosmética e determinação do FPS *in vitro*

Na Figura 4, pode-se observar o aspecto visual das formulações desenvolvidas.

Figura 4: Formulações desenvolvidas: A - Formulação com extrato a 0,2%; B - Formulação com extrato a 10%;



Fonte: elaborada pelo autor

Foi possível observar que a incorporação do extrato na formulação resultou em uma pigmentação específica típica e que a intensidade da pigmentação foi proporcional à quantidade de extrato adicionado na formulação.

Os valores de FPS obtidos nas formulações foram descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores de FPS obtidos nas formulações

Formulação	FPS (0,2 mg/mL)	FPS (2 mg/mL)
FBE0,2	0,5	2,24
FBE2,5	0,7	6,9
FBE5	1,40	10,15
FBE10	1,60	10,8
FBFQ	2,15	15,7
FBEF	2,27	15,88

Fonte: elaborada pelo autor

A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar que a atividade fotoprotetora é proporcional à quantidade de extrato adicionado na formulação. No entanto, quando comparadas as formulações com extrato a 10% e com extrato a 5%, foi possível observar que houve apenas um pequeno aumento no FPS da formulação com 10% do extrato. Pode-se considerar que esse aumento não foi significativo, pois, utilizando o dobro da quantidade de extrato na formulação a 10%, o aumento do valor do FPS foi muito pequeno.

Os valores de FPS obtidos não foram significativamente relevantes numa concentração da formulação de 0,2mg/ml, no entanto, muitos fatores podem interferir na determinação dos valores de FPS, como o tipo de emulsão, a concentração do protetor solar, interações dos componentes da formulação, pH e propriedades reológicas, entre outros fatores

que podem aumentar ou diminuir a absorção UVB da substância fotoprotetora. (DUTRA *et al*, 2004).

Silva (2015) e Silva *et al.* (2016), ao avaliar a capacidade fotoprotetora de formulações utilizando extrato metanólico das cascas de seriguela a 5% e 10%, obtiveram valores de FPS 0 em formulações com concentração de 0,2mg/mL, demonstrando que o extrato do caule da seriguela apresentou melhores resultados.

Balogh *et al.* (2011) analisou FPS de alguns extratos glicólicos em formulações a 10% e a romã, em uma diluição de 0,2mg/ml, apresentou um FPS de 0,27, um resultado bem inferior ao apresentado pela formulação em estudo a 10%.

Oliveira (2011) avaliou o FPS da *Spondias dulcis* (cajá), também a uma diluição padronizada de 0,2mg/mL, e obteve valores de FPS 0,46 para um creme a 5% e 0,79 para um creme a 10%, resultados também muito inferiores aos obtidos no estudo em questão.

Numa concentração de 2mg/mL, foi possível observar que todas as formulações, exceto a FBE0,2, obtiveram resultados significativos de FPS, demonstrando que, nessa concentração final de diluição, o extrato foi capaz de absorver a radiação UVB a partir de uma concentração de 2,5% na formulação.

Silva (2015) e Silva *et al.* (2016), em um estudo com extrato da casca da seriguela, obtiveram resultados de FPS de 0,70 e 0,79, respectivamente, em uma formulação com 10% de extrato numa diluição de 2mg/ml, demonstrando uma atividade fotoprotetora bem inferior à obtida com extrato do caule da seriguela na mesma diluição.

Também foi possível observar que não houve diferença significativa no FPS da formulação que associou filtro químico com extrato quando comparada à formulação utilizando somente o filtro químico. Esse resultado mostrou que não houve um efeito sinérgico quando associada as duas substâncias e que o FPS de 2,27 e de 15,88 da FBEF é atribuído às características absorptivas e fotoprotetoras do metoxicinamato de octila e não de sua associação com o extrato de seriguela. Esse resultado já era esperado devido à análise da varredura do extrato e do metoxicinamato de octila, onde foi possível observar uma absorção superior do filtro químico na região do UVB.

Medina, Louchard e Gonçalves (2015) analisaram o FPS de uma emulsão contendo 10% de extrato de murici associada ao metoxicinamato de octila e não observaram efeito sinérgico no valor do FPS quando comparada a uma emulsão contendo somente o filtro químico orgânico.

Chiari *et al.* (2012) avaliou um possível efeito sinérgico da associação entre 5% de extrato de goiaba e o metoxicinamato de octila em um creme, porém o resultado do estudo demonstrou que não houve um aumento significativo do FPS com a adição do extrato à formulação.

Apesar de não haver sido observado efeito sinérgico, o uso concomitante do extrato com o filtro químico não apresentou uma interferência negativa na formulação, indicando que os dois podem ser utilizados juntos em uma formulação cosmética multifuncional, por exemplo, com o extrato da seriguela atuando como antioxidante e o metoxicinamato de octila com sua atividade fotoprotetora.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através deste estudo foi possível concluir que o extrato do caule da seriguela possui uma excelente atividade antioxidante, importante para o combater os efeitos deletérios provocados pelas espécies reativas de oxigênio provocados pela exposição à radiação UV. Também foi possível concluir que o extrato possui grupos cromóforos capazes de absorver os raios UVB, por possuir em sua constituição grupos fenólicos comprovados pela literatura.

Foi possível observar que o uso concomitante do extrato e do filtro químico orgânico não apresentou uma interferência negativa nas formulações. Embora a incorporação do filtro químico não tenha resultado em efeito sinérgico no FPS, ambos podem ser utilizados juntos em uma formulação cosmética multifuncional, como bases de maquiagem, na qual o extrato atuaria como antioxidante, devido ao excelente resultado obtido e à pigmentação observada proporcional à quantidade de extrato, e o metoxicinamato de octila com a atividade fotoprotetora.

Assim, não se pode descartar o efeito benéfico da utilização deste extrato em preparações cosméticas, inclusive preparações fotoprotetoras, devido à atividade antioxidante que apresenta, evitando danos oxidativos induzidos pelos radicais livres formados pela incidência desta radiação.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. F. C. B. R.; RAMOS, M. A.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. A. comparasion of knowledge about medicinal plants for three rural communities in the semi-arid region of northeast of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 674-684, 2010.
- ALVAREZ-VARGAS, J. E.; ALIA-TEIACAL, I.; CHAVEZ-FRANCO, S. H.; COLINAS-LEON, M. T.; NIETO-ANGEL, D.; RIVERA-CABRERA, F.; AGUILAR-PEREZ, L. A. Ciruelas mexicanas (*Spondias purpurea* L.) de clima húmedo y seco: calidad, metabolites funcionales y actividad antioxidante. **Interciencia**, v. 42, n. 10, p. 653-660, 2017.
- ANDRADE, B. A. **Atividade fotoprotetora in vitro de espécies medicinais da caatinga pernambucana e incorporação em gel dermatológico**. 2015, 73p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.
- ANGELI, V. W. **Desenvolvimento e caracterização de formulações fotoprotetoras contendo nano cápsulas**. 2007, 201p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2007.
- BACCARIN, T.; MITJANS, M.; RAMOS, D.; LEMOS-SENNA, E.; VINARDELL, M. P. Photoprotection by *Punica granatum* seed oil nanoemulsion entrapping polyphenol-rich ethyl acetate fraction against UVB-induced DNA damage in human keratinocyte (HaCat) cell line. **Journal of Photochemistry & Photobiology**, v. 153, p. 127-136, 2015.
- BALOGH, T. S.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Ultraviolet radiation protection: current available resources in photoprotection. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, São Paulo, v. 4, n. 86, p.732-742, 2011.
- BARCAUI, E. O.; CARVALHO, A. C. P.; PIÑEIRO-MACEIRA, J.; BARCAUI, C. B.; MORAES, H. Study of the skin anatomy with high-frequency (22 MHz) ultrasonography and histological correlation. **Radiologia Brasileira**, v. 48, n. 5, p. 324-329, 2015.
- 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, n. 1, p. 195-201, 2014.
- BARON, E. D.; KIRKLAN, E. B.; DOMINGO, D. S. Advances in photoprotection. **Dermatology Nursing**, v. 20, n. 4, p. 265-273, 2008.
- BERNERD, F.; MARIONNET, C.; DUVAL, C. Solar ultraviolet radiation induces biological alterations in human skin in vitro: Relevance of a well-balanced UVA/UVB protection. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 78, n. 7, p.15-23, 2012.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 30, de 01 de junho de 2012. **Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Ministério da Saúde, Brasília, DF, 2012.

BURQUE, R. K.; FRANCESCONI, L. P.; VICTORINO, A. T.; MASCARENHAS, M. A.; CERESER, K. M. Determinação de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante de *Lafoensia pacari* (LYTHRACEAE). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 12, n.1, p. 1-10, 2015.

CHIARI, B.G.; CORREA, A.M.; CHIAVACCI, L. A.; ISSAC, V. L. B. Determinação do fator de proteção solar (FPS) de fitocosmético contendo extrato de goiaba. **26º Congresso Brasileiro de Cosmetologia**. São Paulo, p. 1-6, 2012.

COSTA, S. C. C.; DETONI, C. B.; BRANCO, C. R. C.; BOTURA, M. B.; BRANCO, A. In vitro photoprotective effects of *Marcetia taxifolia* ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 413-418, 2015.

COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 15-19, 2010.

DEUSCHLE, V. C. K. N.; DEUSCHLE, R. A. N.; BORTOLUZZI, M. R.; ATHAYDE, M. L. Physical chemistry evaluation of stability, spreadability, *in vitro* antioxidant, and photoprotective capacities of topical formulations containing *Calendula officinalis* L. leaf extract. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 1. P. 63-75, 2015.

DUTRA, E.A.; OLIVEIRA, D. A. G. C.; KEDOR-HACKMANN, E. R. M.; SANTORO, M. I. R. M. Determination of sun protection fator (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 381-385, 2004.

ENGELS, C.; GRATER, D.; ESQUIVEL, P.; JIMENEZ, V. M.; GANZLE, M. G.; SHIEBER, A. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra-high performance liquid chromatography/ electrospray ionization mass spectrometry. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 557-562, 2012.

FLAMINI, R.G.; STAFILOV, T.; VALKO, M. Recent applications of mass spectrometry in the study of grape and wine polyphenols. **International Scholarly Research Notices Spectroscopy**, v.2013, 2013.

GACHET, M. S. Assessment of anti-protozoal activity of plants traditionally used in Ecuador in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Ethnopharmacology**, v.128, n.1, p. 184-197, 2010.

GONÇALVES, T.; ALMEIDA, A. C.; LOUCHARD, B. O. Fotoprotetor: desenvolvimento, estudo de estabilidade preliminar e avaliação in vitro do Fator de Proteção Solar (FPS). **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n. 2, p. 147-154, 2017.

GONZALEZ, S.; LORENTE, M. F.; CALZADA, Y. G. The latest on skin photoprotection. **Clinics in Dermatology**, v. 26, n. 6, p.614-626, 2008.

GUARATINI, T.; CALLEJON, D. R.; PIRES, D. C.; LOPES, J. N. C. Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 717-721, 2009.

LAI-CHEONG, J. E.; McGRATH, J. A. Structure and function of skin, hair and nails. **Medicine**, v. 45, n. 6, p. 347-351, 2017.

LOPES, F. M.; CRUZ, R. O.; BATISTA, K. A. Radiação ultravioleta e ativos utilizados nas formulações de protetores solares. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 16, n. 4, p. 183-199, 2012.

LORCA, B. S. S. **Desenvolvimento de formulação fotoprotetora contendo nanopartículas poliméricas com filtro solar**. 2012. 153f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Programa de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

MANCIBO, S. E.; HU, J. Y.; WANG, S. Q. Sunscreens: a review of health benefits, regulations and controversies. **Dermatologic Clinics**, v. 32, p. 427-438, 2014.

MANSUR, M. C. P. P. R.; LEITÃO, S. G.; CERQUEIRA-COUTINHO, C.; VERMELHO, A. B.; SILVA, R. S.; PRESGRAVE, O. A. F.; LEITÃO, A. A. C.; LEITÃO, G. G.; RICCI-JUNIOR, E.; SANTOS, E. P. In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, p. 251-258, 2016.

MARTÍNEZ-FLÓRES, S.; GONZALEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J. M.; TUÑÓN, M. J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, v. 17, n.6, p. 271-278, 2002.

MEDINA, C. O.; LOUCHARD, B. O.; GONÇALVES, T. Análise espectrofotométrica da atividade fotoprotetora *in vitro* de extratos das folhas de *Byrsonima sericea*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 3, p. 391-398, 2015.

MIGUEL, L.M. Tendência do uso de produtos naturais nas indústrias de cosméticos da França. **Revista Geográfica de América Central**, v. 2, p. 1-15, 2011.

MILLER, S. A.; COELHO, S. G.; YAMAGUCHI, Y.; HEARING, V. J.; BEER, J. Z.; GRUIJL, F. The evaluation of noninvasive measurements of erythema as a potential surrogate for DNA damage in repetitively UV- exposed human skin. **Photochemistry and Photobiology**, v. 93, n. 5, p. 1281-1288, 2017.

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.

MUSA, K. H.; ABDULLAH, A.; AL-HAIQI, A. Determination of DPPH free radical scavenging activity: Application of artificial neural networks. **Food Chemistry**, v. 194, p. 705-711, 2016.

NASCIMENTO, J. C.; LAGE, L. F. O.; CAMARGOS, C. R. D.; AMARAL, J. C.; COSTA, L. M.; SOUSA, A. N.; OLIVEIRA, F, Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, v. 4, p. 327-332, 2011.

NICHOLS, J. A.; KATIYAR, S. K. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. **Archives of Dermatological Research**, v. 302, p. 71-83, 2010.

OLIVEIRA, J.R.S. **Caracterização de extratos de cajá-manga (*Spondias dulcis*) potencialmente ativos e seguros para a obtenção de fitocosmético antioxidante**. 2011. 182 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Unversidade Estadual Paulista Araraquara, São Paulo, 2011.

SAEWAN, N.; JIMTAISON, A. Photoprotection of natural flavonoids. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 9, p. 129-141, 2013.

SAIJA, A.; TOMAINO, A.; TROBETTA, D.; PASQUALE, A.; UCCELA, N.; BARBUZZI, T.; PAOLINO, D.; BONINA, F. In vitro and in vivo evaluation of caffeic and ferulic acids as topical photoprotective agents. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 199, p. 39-47, 2000.

SANTOS, C. M. S.; SOUZA, P. H. G. Avaliação da atividade fotoprotetora da curcumina. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 9, p. 26-45, 2017.

SARAF, S.; KAUR, C. D. Phytoconstituents as photoprotective novel cosmetic formulations. **Pharmacognosy Review**, v. 7, n. 4, p. 1-11, 2010.

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.

SHAATH, N. A. Ultraviolet filters. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 4, n. 9, p. 464-469, 2010.

SILVA, G. A. **Avaliação da composição química, atividade antioxidante, antibacteriana, antinoceptiva, antiinflamatória e toxicidade do extrato metanólico e frações de folhas de *Spondias* sp. (Anacardiaceae)**. 2012. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

SILVA, G. A.; BRITO, N. J. N.; SANTOS, E. C. G.; LOPEZ, J. A.; ALMEIDA, M. G. Gênero *Spondias*: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 10, n. 1, p. 27-41, 2014.

SILVA, R. V. **Extrato dos frutos de *spondias purpurea* L. Como princípio ativo para formulação cosmética fotoprotetora**. 2015. 81 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Curso de Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2015.

SILVA, R. V.; COSTA, S. C. C.; BRANCO, C. R. C.; BRANCO, A. In vitro photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 509-514, 2016.

SOLOVCHENKO, A.; SCHMITZ-EIBERGER, M. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. **Journal of Experimental Botany**, v. 54, n. 389, p. 1977-1984, 2003.

SOUZA, T. M.; SANTOS, L. E.; MOREIRA, R. R. D.; RANGEL, V. L. B. I. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L.(Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 36-38, 2005.

SVOBODOVA, A.; WALTEROVA, D.; VOSTALOVA, J. Ultraviolet light induced alteration to the skin. **Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia**, v. 1, n. 150, p.25-38, 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.

VENUS, M.; WATERMAN, J.; McNAB, I. Basic physiology of the skin. **Surgery (Oxford)**, v. 29, n. 10, p. 471-474, 2011.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.

VILLA-HERNANDEZ, J. M.; MENDOZA-CARDOSO, G.; MENDOZA-ESPINOZA, J. A.; VELA-HINOJOSA, C.; LEON-SANCHEZ, F.D.; RIVERA-CABRERA, F.; ALIA-TEJACAL, I.; PEREZ-FLORES, L. Antioxidant capacity *in vitro* and *in vivo* of various ecotypes of Mexican Plum (*Spondias purpurea* L.). **Journal of Food Science**, 2017.

VIOLANTE, I. M. P.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F. S.; SANTOS, R. A. N.; FERRARI, M. Avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2A, p. 452-457, 2009.

WANG, S. Q.; BLAGULA, Y.; OSTERWALDER, U. Photoprotection: a review of the current and future technologies. **Dermatologic therapy**, v. 23, p. 31-47, 2010.