



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS



ELIANE DE VASCONCELOS CAIXÊTA

**Avaliação do potencial fotoprotetor do extrato hidroalcoólico
de *Lafoensia pacari* A. St-Hill (Lytraceae) e obtenção de uma
formulação fitocosmética**

Goiânia
2014

ELIANE DE VASCONCELOS CAIXÊTA

Avaliação do potencial fotoprotetor do extrato hidroalcoólico de *Lafoensia pacari* A. St-Hill (Lytraceae) e obtenção de uma formulação fitocosmética

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Profª Drª Maria Teresa Freitas Bara
Co-orientador: Profª Drª Danielle Guimarães Almeida Diniz

Goiânia

2014

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
da Universidade Federal de Goiás

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno(a): Eliane de Vasconcelos Caixêta

Membros:

1. Profª Drª Maria Teresa Freitas Bara - UFG

2. Profª Drª Elissa Arantes Ortrosky - UFRN

3. Prof. Dr. Marco Júnior Peres Filho -UEG

Suplente

Profª Drª Ieda Maria Sapateiro Torres - UFG

Data: 08/12/2014

“Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir, entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir.”

Cora Coralina

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

“Nossa vida se molda por meio das pessoas que conosco compartilham, amizades, sonhos e alegrias, que ajudam a compor nossa história e fazem os nossos dias serem mais especiais, ocupando um lugar eterno em nosso coração.”

Agradeço imensamente:

Primeiramente a **Deus**, pela grandeza de sua misericórdia e pela força recebida em todos os momentos da minha vida, mesmo quando não merecedora !!!

À professora **Maria Teresa Freitas Bara**, pelo honroso convite em orientar, pela enorme paciência e carinho como sempre me tratou. Você me ensinou a acreditar e a valorizar as plantas, a entender o quanto elas podem ser necessárias à nossa vida e principalmente me ensinou que conhecimento nunca é demais, que podemos sim em qualquer fase da vida ser capaz de conseguir o que almejamos, você inspira seus alunos com seu jeito humilde e terno de ser. Vou perder a orientadora mas ganhei uma amiga maravilhosa!!!!!!

À professora **Daniele Guimarães Almeida Diniz**, por ter pensado em mim quando surgiu esta oportunidade, sempre me incentivando a crescer e me qualificar, me tratando com carinho, puxando a orelha sempre que necessário, pela paciência nas horas de insegurança e total desconfiança em minha capacidade. Dani, você foi aluna e depois professora, por fim orientadora e nunca deixou de ser uma amiga muito especial!!!!!!

Ao professor **Edemilson Cardoso da Conceição**, por sempre, a vida toda, me incentivar a melhorar e crescer, me super valorizando e mostrando que basta ter vontade e perseverância que podemos conseguir ir até o fim.

À professora **Ieda Maria Sapateiro Torres** pela imensa disposição em me ensinar e auxiliar nos ensaios microbiológicos, por me orientar e ajudar sempre que precisei

À **Nercy, Luíza Toubas, Isabela, Wilma**, pessoas a quem devo grande gratidão pelas orientações e auxílio nos ensaios microbiológicos.

Ao querido novo amigo **Elviscley**, sempre me ensinando, auxiliando e orientando nos ensaios de HPLC, todas às vezes e foram muitas, que me ajudou neste percurso de dois anos,” São Elvis “, muito obrigada.

À querida amiga **Fernanda Bellato**, sempre tão cordial, solícita, prestativa, amável, imensamente competente, você é o sucesso do programa.

Às colaboradoras **Mel, Edna, Glorinha** pela amabilidade com que sempre me trataram.

À maravilhosa família LPPN, as alunas que estavam saindo quando entrei, **Beatriz e Leandra**, e aos que continuaram e posteriormente entraram, **Mythali, Mariana, Karen, Aline Mar, Marcos Túlio, Professora Joelma, Euliara, Stone, Sara, Rúbia, Laila, Susana, Ladyslène, Andressa**, todos contribuíram e muito para a finalização do meu trabalho.

Aos membros do Laboratório Farmatec pelas constantes ajudas sempre que solicitava, professora **Eliana Martins, Lívia, Letícia, Percília, Soraia, Marilise, André, Gisele, Luís, Marcelo, Patrícia, Lorena, estagiário de PIBIC Rafael**, muito obrigada pela paciência e ensinamentos.

A **Alana, Thaís e Paulo** do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia Celular pela ajuda em entender os resultados da citotoxicidade.

Às queridas **Stefani e Wanessa Rocha** pela amizade e força a mim dedicadas.

Ao aluno de farmácia **Iuri Santos e Tavares** pela imensa ajuda na formatação e apresentação

Às professoras **Vera Lúcia B. I. Rangel** de Araraquara por prontamente aceitar participar do trabalho com seus valiosos conhecimentos e ajuda técnica.

Aos meus amadíssimos colegas da Farmácia Escola, **Luciana, Fabíola, Ingrid, Claudia, Lígia, Rosa, Rogéria** que me ajudaram, incentivaram, me deram muita força, a **Núzia**, que segurou as pontas na dermato acumulando várias funções para que eu pudesse me ausentar me incentivou sempre com muito carinho e amizade, temos uma longa história de cumplicidade, você sempre torceu pelo meu sucesso, devo muito a você, obrigada **Cássio** pelas constantes ajudas e correções no meu trabalho.

Ao meu querido pai **João Caixêta**, sempre incentivador, exemplo de caráter e retidão por toda minha vida, o senhor foi e será sempre meu herói!!!!

Aos meus irmãos **Adriane, Paulo**, tias **Nice, tia Irani, Janete, sogra, cunhados, sobrinhos, primos**, todos que de alguma forma sempre torceram por mim.

Finalmente ao meu esposo **Júlio, filho Júlio César, enteados Guilherme e Gustavo**, pelo incentivo, força, torcida e muita paciência no decorrer desta etapa, vocês agüentaram firme as constantes reclamações de cansaço, mau humor, insegurança, ausências, pouca atenção que pude dispensar a vocês neste período, foram minha maior inspiração.

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Área que compõe o cerrado no Brasil.	30
Figura 2- <i>Lafoensia pacari</i> encontrada no cerrado. A) Aspecto geral, B) Detalhe da casca, C) Detalhe das partes aéreas.	31
Figura 3- Composição da luz solar, divisão das regiões UV, Visível e Infravermelho.	33
Figura 4- Esquema da penetração dos raios solares nas camadas da pele alcançadas pelos raios UV, Luz Visível e Infravermelho.	35
Figura 5- Classificação dos tipos de pele, conseqüências da exposição solar	37
Figura 6- Esquema das formulações em gel-creme manipuladas nesse estudo	56
Figura 7- Detalhe da folha de <i>Lafoensia pacari</i> (face adaxial).....	64
Figura 8- Perfil em CCDC das 4 amostras de <i>L.pacari</i> obtidas por refluxo (1 e 2h) e por banho de ultrassom (15 e 30 min).....	66
Figura 9- Curva padrão do ácido tânico para cálculo de fenóis totais no extrato de pacari obtido por ultrassom	67
Figura 10- Curva de calibração do padrão de rutina para cálculo do teor de flavonóides totais no extrato de pacari	68
Figura 11- Estrutura química do núcleo central dos flavonóides e sua numeração..	69
Figura 12- Estabilização do radical livre DPPH demonstrada pela mudança de coloração de violeta escura para amarela.....	70
Figura 13- Curva do extrato de Pacari para teste de DPPH para cálculo do EC50..	70
Figura 14- Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe ³⁺	71
Figura 15- Curva padrão de sulfato ferroso(µM) para cálculo da atividade antioxidante pelo método de FRAP.....	72
Figura 16- Curva do extrato de Pacari para determinação da atividade antioxidante pelo método FRAP	72
Figura 17- Curva para determinação da concentração do extrato de pacari.....	74
Figura 18- Curva para determinação da concentração do eusolex 2292 [®]	75
Figura 19- Espectro de absorção do extrato de pacari.....	76
Figura 20- Espectro de absorção do eusolex 2292 [®]	76
Figura 21- Sobreposição dos espectros de absorção do extrato de Pacari 0,025 mg/mL e eusolex 2292 [®] 0,006 mg/ mL.	77
Figura 22- Estrutura química do poliacrilamida	78

Figura 23- Espectro de absorção do Gel-creme.....	79
Figura 24- Espectro de absorção da F2	79
Figura 25- Espectro de absorção da F1	80
Figura 26- Espectro de absorção da F3	80
Figura 27- Sobreposição dos <i>scans</i> do extrato de pacari, eusolex 2292 [®] , F1, F2, F3, suas bandas máximas de absorção, destacando a área em que o extrato de pacari absorve na faixa da radiação UV	82
Figura 28- Espectro de absorção da formulação F3 após 90 dias a 5 °C ± 2.....	84
Figura 29- Espectro de absorção da formulação F3 após 90 dias a 25 °C ± 2.....	84
Figura 30- Espectro de absorção da formulação F3 após 90 dias em 40 °C ± 2.....	85
Figura 31- Cromatograma do extrato de pacari (0,01 mg/mL).....	86
Figura 32- Cromatograma da formulação F3 (0,1 mg/mL)	86
Figura 33- Sobreposição dos cromatogramas do extrato de pacari e F3	87
Figura 34- Varredura do primeiro pico do extrato de pacari	87
Figura 35- Varredura do segundo pico do extrato de pacari.....	87
Figura 36- Varredura do primeiro pico da F3.....	88
Figura 37- Varredura do segundo pico da F3.....	88
Figura 38- Leituras das viscosidades do gel-creme	89
Figura 39- Leituras das viscosidades da formulação F1	89
Figura 40- Leituras das viscosidades da formulação F3	89
Figura 41- Leituras das viscosidades da formulação F2	89
Figura 42- Sobreposição dos gráficos correspondentes às viscosidades do gel-creme, F1, F2 e F3.....	89

LISTA DE QUADROS

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Histórico do desenvolvimento de Protetores Solares	38
Quadro 2. Ponderação empregada no cálculo do FPS segundo Método de Mansur.	58

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características físico-químicas do extrato de pacari.....	65
Tabela 2- Determinação do FPS para construção da Curva e determinação da concentração do extrato de pacari.	74
Tabela 3- Determinação do FPS para construção da Curva e determinação da concentração do eusolex 2292 [®]	75
Tabela 4- Espectro de absorção máxima e em λ de 290 e 320 <i>nm</i> do extrato de pacari e eusolex 2292 [®]	76
Tabela 5- Espectro de absorção máxima e nos λ de 290 e 320 <i>nm</i> das formulações F1, F2 E F3	81
Tabela 6- Valores encontrados de FPS do gel e das formulações F1, F2 e F3.....	81
Tabela 7- Determinação do FPS do gel e das formulações F1 e F3 pelo método de Reflectância Difusa.	83
Tabela 8- Leituras de FPS da formulação F3 após 90 dias de armazenamento em três condições de temperatura.....	85
Tabela 9- Leituras de FPS do extrato de Pacari puro e adicionado com Vit. E 0,5% em três tempos diferentes em temperatura ambiente.....	86
Tabela 10- Resultados da centrifugação da formulação F3 e branco em 30 minutos.....	91
Tabela 11- Resultados do estresse térmico da formulação F3 e branco.....	91
Tabela 12- Resultados para os testes de pH da formulação e branco no tempo 0...92	
Tabela 13- Resultados para os testes de pH da formulação e branco pós ciclo gela-degela	92
Tabela 14- Resultados da viscosidade em velocidades decrescentes da formulação F3 em triplicata e do branco em cp no tempo 0	92
Tabela 15- Resultados da viscosidade em velocidades crescentes da formulação F3 em triplicata e do branco em cp no tempo 0	93
Tabela 16- Resultados da viscosidade em velocidades decrescentes da formulação F3 em triplicata e do branco em cp após ciclo gela-degela.....	93
Tabela 17- Resultados da viscosidade em velocidades crescentes da formulação F3 em triplicata e do branco em cp após ciclo gela-degela.....	93

Tabela 18- Resultados da condutividade elétrica da formulação F3 em triplicata e do branco no tempo 0	94
Tabela 19- Resultados da condutividade elétrica da formulação F3 em triplicata e do branco após ciclo gela-degela.....	94
Tabela 20- Resultados para o FPS da formulação F3 em triplicata e do branco no tempo 0.	94
Tabela 21- Resultados para o FPS da formulação F3 em triplicata e do branco após ciclo gela-degela.....	94

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

μQuant- Micro quant

μS- Microsiemens

ABIHPEC – Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal Perfumaria e Cosmético

AMP 2000- Aminomethyl Propanol

BUS- Banho de Ultrassom

COLIPA- European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association

Cp- centipoise

DAD- Detector de Arranjos de Diodo

DDPH-Difenil picril hidrazil

DME- Dose máxima eritematos

EC₅₀- Effetive Concentration

EDTA- Ácido Etilenodiamino tetra acético

EHP- Extrato Hidroalcoólico de Pacari

ERO- Espécie Reativa de Oxigênio

FRAP- Ferric Reducing Antioxidant Power

FT- Fenóis Totais

Fv- Flavonóides Totais

INCI- International Nomenclature of Cosmetic Ingredient

INCA- Instituto Nacional de Câncer

LSS- Lauril Sulfato de Sódio

MEC- Matriz Extra Celular

mJ- Mili Joule

NP-Difenilborato de aminoetano

TPTZ- Tri-piridil-triazina

SUMÁRIO

Lista de FIGURAS.....	ix
LISTA DE QUADROS.....	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	xvii
RESUMO.....	xxiv
ABSTRACT.....	xxvi
INTRODUÇÃO	28
1.1 ESPECTRO DE ENERGIA SOLAR	32
1.2 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA.....	33
1.2.1 Penetração dos raios UVB na pele	35
1.3 FOTOPROTEÇÃO	38
1.3.1 Tipos de Filtros Solares.....	39
1.3.2 Fator de Proteção Solar (FPS)	41
1.4 FOTOPROTEÇÃO X PRODUTOS NATURAIS.....	42
OBJETIVOS.....	44
2.1 GERAL	45
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
3 MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1 MATERIAL	47
3.1.1 Material Vegetal	47
3.1.2 Matérias primas.....	47
3.1.3 Equipamentos	48
3.2 MÉTODOS	49
3.2.1 Preparação do extrato hidroalcoólico da <i>Lafoensia pacari</i>	49
3.2.2 Determinações físico-químicas do extrato hidroalcoólico de <i>L.pacari</i>	49
3.2.2.1 Determinação do pH.....	49
3.2.2.2 Determinação da Densidade Relativa	50
3.2.2.3 Determinação do teor de sólidos.....	50
3.2.3 Caracterização farmacognóstica do extrato hidroalcoólico de <i>L. pacari</i>	50
3.2.3.1 Determinação do perfil cromatográfico da matéria prima vegetal por Cromatografia em Camada Delgada Comparativa (CCDC).....	51

3.2.3.2 Determinação do teor de fenóis totais (FT)	51
3.2.3.3 Determinação do teor de Flavonoides Totais (FV)	52
3.2.3.4 Determinação do poder antioxidante do extrato pelo método da Captura do Radical Livre DPPH.....	53
3.2.3.5 Determinação do poder antioxidante do extrato pelo método do FRAP	54
3.2.3.6 Perfil cromatográfico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) do extrato	55
3.2.4 Obtenção das formulações cosméticas.....	55
3.2.4.1 Determinação da viscosidade do gel-creme e das formulações F1,F2 e F3.	56
3.2.4.2 Cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE) da F3 para monitoramento do perfil químico do extrato de pacari.....	57
3.2.7 Determinação Espectrofotométrica do Fator de Proteção Solar (FPS)	57
3.2.7.1 Determinação das varreduras do extrato de pacari e eusolex 2292 [®]	57
3.2.7.2 Determinação do FPS do extrato de pacari e eusolex 2292 [®] pelo método in vitro de Mansur (1986)	58
3.2.7.3 Construção das curvas de Concentrações X Absorbâncias.....	59
3.2.7.4 Determinação do FPS in vitro do gel-creme e formulações F1, F2 e F3.....	59
3.2.7.5 Determinação do FPS in vitro do gel-creme F3, após 90 dias, em três temperaturas de armazenamento (5°, 25° e 40°)	59
3.2.8 Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS in vitro) por Espectroscopia por Reflectância Difusa	60
3.2.9 Testes de Estabilidade	60
3.2.9.1 Testes preliminares de estabilidade	60
3.2.9.1.1 Teste de Centrifugação	61
3.2.9.1.2 Avaliação de pH	61
3.2.9.1.3 Viscosidade	61
3.2.9.1.4 Avaliação das características organolépticas.....	61
3.2.9.1.5 Estresse térmico.....	61
3.2.9.1.6 Condutividade elétrica	62
3.2.9.2 Ciclo Gela – Degela.....	62
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4.1 MATERIAL VEGETAL	64
4.1.1 Preparo e caracterização do extrato hidroalcoólico do L. pacari	64

4.1.2 Perfil cromatográfico em Camada Delgada Comparativa (CCDC).....	66
4.1.3 Determinação de Fenóis Totais (FT).....	66
4.1.4 Determinação do teor de Flavonoides Totais (FV).....	68
4.1.5 Determinação do poder antioxidante do extrato pelo método da Captura do Radical Livre DPPH.....	69
4.1.6 Determinação do poder antioxidante do extrato pelo método do FRAP.....	71
4.2 DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS).....	73
4.2.1 Determinação da curva de FPS do extrato de pacari e do eusolex 2292®.....	74
4.2.2 Determinação dos espectros de absorção máxima do extrato de pacari e do eusolex 2292®.....	75
4.2.3 Determinação das Varreduras e do Espectro de Absorção Máxima do Focus Gel 305 e das formulações F1, F2 e F3.....	78
4.2.4 Determinação dos FPS das formulações F1, F2 e F3.....	81
4.3. VERIFICAÇÃO DO FPS DAS FORMULAÇÕES PELO TESTE DE ABSORBÂNCIA DIFUSA JUNTO AO LACOS.....	82
4.3.1 Determinação do FPS pelo método de Reflectância Difusa.....	82
4.4 DETERMINAÇÃO DO FPS DA FORMULAÇÃO F3 ARMAZENADAS EM DIFERENTES TEMPERATURAS APÓS 90 DIAS.....	83
4.5 PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO DE PACARI E DA FORMULAÇÃO POR CLAE.....	86
4.6 VISCOSIDADE DAS FORMULAÇÕES.....	88
4.7 ESTUDOS DA ESTABILIDADE.....	90
4.7.1 Estabilidade preliminar.....	90
4.7.1.1 Resultados para características físico-químicas no tempo zero e pós ciclo gela-degela.....	91
CONCLUSÕES.....	96
REFERÊNCIAS.....	98
ANEXOS.....	112
ANEXO A- Laudo do Distribuidor Pharma Nostra para o Eusolex 2292®.....	113
ANEXO B- Laudo do Distribuidor Pharma Nostra para o Focus Gel 305®.....	114
ANEXO C- Laudo do Distribuidor Gemini para o Nipagin®.....	115
ANEXO C- Laudo do Distribuidor All Chemistry para o EDTA Dissódico.....	116
APÊNDICES.....	117

Apêndice A. Absorbâncias do padrão do ácido tânico para o cálculo de Fenois Totais do extrato obtido por ultrassom	118
Apêndice B. Absorbâncias da amostra do ext. de pacari para Fenois Totais	118
Apêndice C. Absorbâncias da curva padrão de rutina para Flavonoides Totais.	118
Apêndice D. Absorbâncias da amostra do ext. de Pacari para Flavonoides Totais	119
Apêndice E. Absorbâncias do extrato de Pacari para teste de DPPH.....	119
Apêndice F. Absorbâncias para construção da curva-padrão do sulfato ferroso	119
Apêndice G. Absorbâncias do extrato de Pacari para o teste de FRAP.....	119
Apêndice H. Leituras das viscosidades das amostras de gel-creme.....	120
Apêndice I. Leituras das viscosidades das amostras de F1	120
Apêndice J. Leituras das viscosidades das amostras de F2	120
Apêndice K. Leituras das viscosidades das amostras de F3.....	121

RESUMO

No Brasil, o número de casos de câncer de pele tem aumentado, representando um considerável problema de saúde pública. Diversos produtos cosméticos têm sido desenvolvidos com filtros solares e sob ponto de vista mercadológico a adição de produtos naturais, em particular contendo compostos fenólicos, tem sido alvo de vários estudos. O objetivo desse trabalho foi determinar o Fator de Proteção Solar (FPS) do extrato hidroalcoólico de *Lafoensia pacari* e avaliar o seu potencial de aditivação do FPS em uma formulação fotoprotetora contendo o filtro químico metoxicinamato de octila. Primeiramente procedeu-se a obtenção do extrato hidroalcoólico de *L. pacari* e monitorização do processo extrativo por CCD. O FPS do extrato de pacari, do filtro químico metoxicinamato de octila (eusolex 2292[®]) e das formulações foram determinados tanto através da técnica de Mansur e colaboradores com adaptações, como por reflectância difusa. O perfil cromatográfico do extrato e da formulação foram investigados por CLAE, bem como o doseamento de fenóis totais e flavonóides totais. Além disso, foram realizados ensaios para atividade antioxidante do extrato pelos métodos de DPPH e FRAP. Por fim, foi realizada a estabilidade acelerada em ciclo de 90 dias da formulação em três condições de temperatura diferentes. Em relação ao perfil cromatográfico por CCD foram detectadas oito manchas, nas quatro condições de extração empregadas, sendo eluídas de maneira idêntica e após reveladas por NP, as quais foram indicativas de polifenóis e flavonóides. Selecionou-se a extração por banho de ultrassom 30 min. O FPS alcançado para a formulação contendo somente o eusolex 2292[®] foi 5,37. A formulação contendo eusolex 2292[®] e extrato apresentou FPS de 7,3, o que indica a aditivação na fotoproteção. Empregando a técnica de reflectância os resultados alcançados foram de 9,7 para 11,11, o que confirma a aditivação por uma técnica mais sensível. Os perfis cromatográficos, por CLAE, do extrato e da formulação apresentaram picos com tempos de retenção e espectro de absorção no UV idênticos, confirmando assim a presença do extrato na formulação final. O doseamento de fenóis totais resultou em 3,31% e de flavonóides totais 0,31%. A atividade antioxidante pelo método de DPPH apresentou $EC_{50} = 53,73 \mu\text{g} / \text{mL}$ e para FRAP o resultado mostrou que 1 g do extrato de pacari apresentou capacidade de redução de 323,62 μM de sulfato ferroso. O teste de estabilidade preliminar mostrou que houve uma estabilidade da formulação no FPS e na viscosidade após ciclo gela-degela. Verificou-se que o extrato obtido das folhas de pacari possui absorvância na região UVC, UVB e UVA. Este extrato foi capaz de aditivar o FPS da formulação desenvolvida neste trabalho, contendo filtro químico eusolex 2292[®] e apresentou atividade antioxidante.

Palavras chaves: FPS, extrato de pacari, formulação, eusolex 2292[®].

ABSTRACT

In Brazil, the number of cases of skin cancer has increased, representing a significant public health problem. Various cosmetic products have been developed with sunscreens and from marketing's point of view the addition of natural products in particular containing phenolic compounds, has been the subject of several studies. The aim of this study was to determine the Sun Protection Factor (SPF) of hydroalcoholic *Lafoensia pacari* extract and assess its potential for additive in SPF in a sunscreen formulation containing the chemical filter metoxycinamate octyl. First it was obtained hydroalcoholic *L. pacari* extract and the monitoring of extraction process by CCD. The SPF from *L. pacari* extract, from the chemical filter metoxycinamate octyl (eusolex 2292[®]) and both formulations were determined using the technique of Mansur and colleagues with adaptations, such as diffuse reflectance. The chromatographic profile of the extract or formulation were investigated by CLAE as well as dosing of total phenols and flavonoids. In addition, tests for antioxidant activity of the extract by DPPH and FRAP methods were carried out. Lastly, it was performed the accelerated stability on a 90-day cycle formulation at three different temperature conditions. Regarding the chromatographic profile by CCD it was detected seven stains in the four extraction conditions employed, being eluted identically and after revealed by NP, they were indicative of polyphenols and flavonoids. It was selected the extraction by bath of 30 min ultrasound. The formulation containing eusolex 2292[®] and extract achieved a 7.3 indicating activation and photoprotection. Using a reflectance technique, the achieved results were from 9.7 to 11.11, confirming the additive by a more sensitive technique. The chromatographic profiles, by CLAE, the extract or formulation showed peaks with retention times and identical UV absorption spectrum, thereby confirming the presence of the extract in the final formulation. Dosing of total phenols resulted in 3.31% and total flavonoids 0.31%. Antioxidant activity by DPPH assay showed $EC_{50} = 53,73$ mg/L and FRAP results showed that 1 g of Pacari extract showed reduction capability of 323.62 μ M of ferrous sulfate. The preliminary stability test showed that there was a formulation stability in the FPS and viscosity after freeze - defrost cycle. It was found that the extract obtained from the leaves of *L. pacari* has absorbance in UVC, UVB and UV. This extract was able to aditivar FPS formulation developed in this work, containing eusolex 2292[®] chemical filter and showed antioxidant activity .

Key-words: SPF, *L. pacari* extract, formulation, eusolex 2292[®]

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos vegetais para fins de embelezamento tem referências de 5000 anos atrás (VAFRÉ, 1990). As primeiras farmacopéias e formulários de produtos surgiram no Egito, destacando-se entre elas o *Papyrus Ebers*, que continha centenas de fórmulas e remédios populares à base de plantas para cuidados de saúde, higiene e beleza (DE POLO, 1998). Embora tenha ocorrido um grande empenho científico e tecnológico, para aumentar a credibilidade na utilização de produtos de origem vegetal, existem ainda muitas questões a serem esclarecidas referentes à comprovação científica dos efeitos que têm sido atribuídos aos diferentes extratos. Ainda assim, a obtenção de matérias primas vegetais e aplicação destas em produtos cosméticos tem tido grande crescimento, em função do sucesso destas formulações junto ao mercado consumidor, que busca cada vez mais produtos de forma a aproveitar os benefícios proporcionados pela natureza (DAL'BELO, 2008).

O cerrado possui uma área de 2,04 milhões de quilômetros quadrados, o que equivale a aproximadamente 22% do território nacional (Fig.1). O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, somente superado pela Amazônia. Este bioma ocupa a área central do Brasil, englobando os Estados de Goiás, Distrito Federal, e parte dos Estados de Minas Gerais, Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia, Tocantins, Maranhão, Piauí e Pará (SANO et al., 2008; SANO & FERREIRA, 2005; KLINK & MACHADO, 2005; SHIKI, 1997). Na área do cerrado é encontrado um terço da biodiversidade brasileira e cerca de 5% da flora e fauna mundiais.

Figura 1- Área que compõe o cerrado no Brasil.



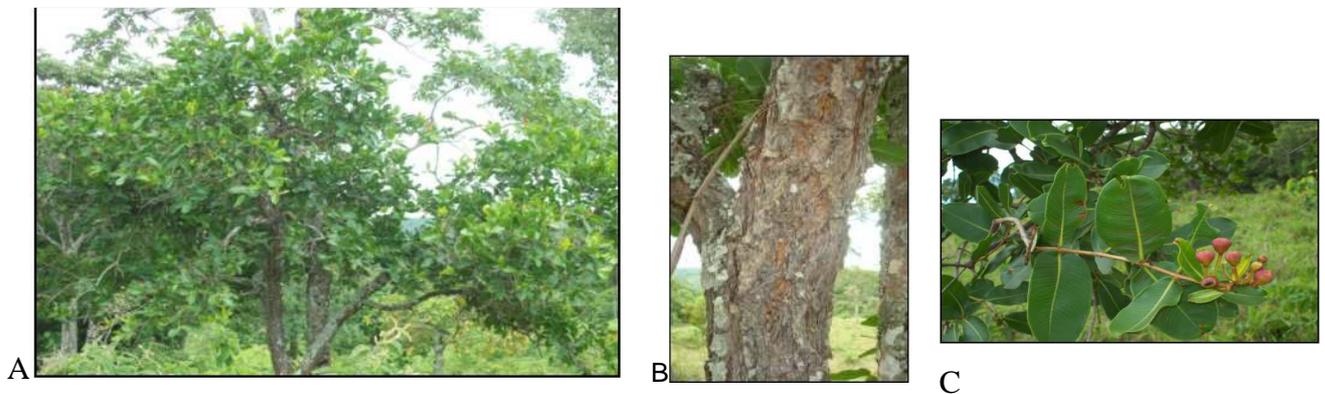
Disponível em: <http://paporeciadocomricardoinez.blogspot.com.br/>

Dentre as famílias mais representativas da flora do cerrado, correspondente a 51% do total, estão as Fabaceae (Leguminosae), Asteraceae (Compositae), Orchidaceae, Poaceae (Gramineae), Rubiaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Euphorbiaceae, Malpighiaceae e Lytraceae (RIBEIRO; DIAS, 2007). A família Lytraceae compreende 22 gêneros distribuídos genericamente por todo o mundo (JOLY, 2002), por sua vez, no Brasil ocorrem seis espécies do gênero *Lafoensia*: *Lafoensia pacari* A. St. Hil., *Lafoensia densiflora* Pohl, *Lafoensia glyptocarpa* Koehne, *Lafoensia replicata* Pohl, *Lafoensia vandelliana* Cham. & Schtdl, *Lafoensia nummularifolia* A. St.Hil. (MEIRA, 2000; SANO; ALMEIDA; RIBEIRO, 2008).

A demanda crescente, o intenso extrativismo das espécies medicinais e as constantes queimadas do cerrado, vêm paulatinamente inserindo a espécie *L. pacari* na categoria de vulnerável, ou seja, aquela com probabilidade de passar à categoria de espécie em perigo de extinção (FACHIM & GUARIM, 1995). O seu uso, com objetivos terapêuticos, tem reduzido o número de indivíduos no ambiente natural de sua ocorrência, devido ao caráter meramente extrativista dessa prática. A retirada da casca, para fins medicinais leva a planta à morte, causada pelo anelamento do caule (TONELLO, 1997).

Lafoensia pacari A. St. Hill (Fig.2) é uma planta de porte arbóreo, pertencente à família Lythraceae, a qual é representada por cerca de 600 espécies distribuídas principalmente nos trópicos. Essa espécie é conhecida vulgarmente como dedaleiro, dedal, mangava-brava e pacari, e encontra-se principalmente disseminada em florestas de altitude, no cerrado e na arborização de ruas. É utilizada pela população brasileira como febrífugo, cicatrizante e tônico (MUNDO; DUARTE, 2007), cicatrizante (VILA VERDE et al., 2003), antidiarreico (COELHO et al., 2005) e anitulcerogênico (JESUS et al., 2009).

Figura 2- *Lafoensia pacari* encontrada no cerrado. A) Aspecto geral, B) Detalhe da casca, C) Detalhe das partes aéreas.



Fonte: CHAIBUB (2013)

Ensaio farmacológicos, empregando extrato de folha e caule, tem comprovado as atividades antifúngica e antiinflamatória, bem como a presença de anti radicais livres (MUNDO; DUARTE, 2007). As cascas do caule e as folhas apresentam diversas atividades biológicas tais como em processos alérgicos e asma (ROGERIO et al., 2008), antinociceptivo e antiinflamatório (GUIMARÃES et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2011; CHAIBUB, 2013), antidepressivo (GALDINO et al., 2009) e antiulcerogênico (TAMASHIRO FILHO et al., 2012; CHAIBUB, 2013), ação antiviral contra herpes tipo 1 (MULLER et al., 2007), atividade antibacteriana (ALVES et al., 2000) e atividade antioxidante (SÓLON et al. 2000).

Os principais constituintes químicos descritos para *L. pacari* pertencem, na sua maioria, à classe dos compostos fenólicos, tais como os taninos, os flavonoides, ácido élagico (SÓLON et al., 2000; SAMPAIO et al., 2011), esteroides e saponinas (VIOLANTE et al., 2009).

1.1 ESPECTRO DE ENERGIA SOLAR

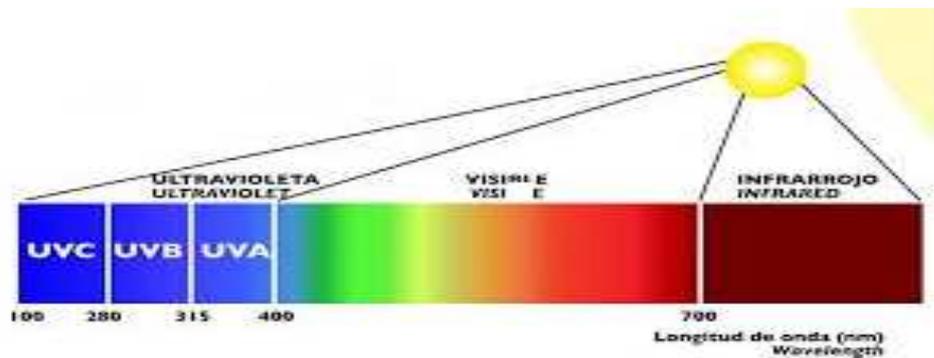
As radiações solares necessárias à fotossíntese nos vegetais, saúde e bem estar no homem, também podem causar danos agudos ou crônicos à pele humana, dependendo da duração e frequência de exposição, intensidade das radiações e da sensibilidade do indivíduo. Os efeitos nocivos da radiação solar vão além do eritema, edema e calor iniciais, incluem distúrbios imunológicos, danos ao DNA, ativação de proteínas de estresse, aumento dos níveis das espécies reativas de oxigênio (ERO) e redução da eficácia dos sistemas antioxidantes naturais (FLOR et al., 2007), Juchem *et al.* (1998) sugerem que há aproximadamente 40 tipos de doenças que são causadas ou agravadas pela exposição solar, entre elas: doenças genéticas (xeroderma pigmentoso, albinismo), desordens metabólicas (porfirias), doenças induzidas por drogas fototóxicas ou fotoalergênicas, doenças fotoimunológicas, doenças degenerativas, assim como diversos processos como a urticária solar e o lúpus eritematoso discóide. Diversos estudos epidemiológicos realizados pela Organização Mundial da Saúde apontam que a exposição à radiação ultravioleta (UV) é o principal agente etiológico do câncer cutâneo, especialmente se a exposição excessiva à radiação solar ocorrer durante a infância e a adolescência (WHO, 2001).

É sabido que a radiação UV apresenta efeitos benéficos para a saúde. Esta estimula a produção da Vitamina D3 (colicalciferol), envolvida no metabolismo ósseo e no funcionamento do sistema imunológico e é utilizada no tratamento de doenças de pele como psoríse e vitiligo. A exposição regular do paciente à radiação UV caracteriza a fototerapia, que pode ser usada em conjunto com alguns medicamentos que aumentam a sensibilidade do paciente à radiação, promovendo melhora no quadro de determinadas doenças dermatológicas (WILKINSON; MOORE, 1990; PATHAK, 1997; PALM, 2007; SGARBI et al., 2007; GONZALES et al., 2008).

A luz solar é composta por espectro contínuo de radiação eletromagnética que apresenta divisão e denominação em concordância com o intervalo de comprimento de onda (λ): radiação ultravioleta (UV) (100-400nm), visível (400-780nm) e infravermelho (> 780 nm) (Fig.3). Tais intervalos de λ , provenientes da radiação solar, irradiam a superfície da terra e apresentam assim distribuídos: 56%

de infravermelho, 39% de luz visível e 5% de radiação ultravioleta. A radiação UV contribui com região restrita do espectro da radiação eletromagnética e é subdividida, tradicionalmente em: UVC (100-290 *nm*), UVB (290-320 *nm*) e UVA (320-400 *nm*). A radiação UVA, por sua vez, é classificada em UVA 1 (340-400 *nm*) e UVA 2 (320-340 *nm*) (SVOBODOVA et al. 2006; PALM, 2007; GONZALES et al., 2008).

Figura 3- Composição da luz solar, divisão das regiões UV, Visível e Infravermelho.



Disponível em: http://aralruha.blogspot.com.br/2014_01_01_archive.html

1.2 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

A radiação UV é absorvida por diversos cromóforos na pele, tais como: melanina, DNA, RNA, proteínas, aminoácidos aromáticos, como a tirosina e o triptofano, ácido urocânico, entre outro. A absorção da radiação UV pelos cromóforos gera reações fotoquímicas diferentes e interações secundárias, envolvendo espécies reativas do oxigênio, que resulta em efeitos prejudiciais quando da exposição em excesso (GONZALES et al., 2003)

➤ UVA (320 a 400 nm)

É mais abundante que a radiação UVB na superfície terrestre (UVA 95%, UVB 5%). Quando comparada à radiação UVB, sua capacidade em induzir eritema

na pele humana é aproximadamente mil vezes menor, porém, penetra mais profundamente na derme. Induz pigmentação da pele promovendo o bronzeamento por meio do escurecimento da melanina pela fotoxidação da leucomelanina, localizada nas células das camadas externas da epiderme (VELASCO; RIBEIRO 1988). Histologicamente causa danos ao sistema vascular periférico e induz o câncer de pele, dependendo do tipo de pele e do tempo, frequência e intensidade de exposição (RUVOLO, 1997; STEINER, 1995). Associam-se à radiação UVA os efeitos do envelhecimento precoce da pele. A radiação UVA também provoca redução na quantidade de células de Langerhans e aumento na quantidade de células inflamatórias presentes na derme (PALM MD, O`DONOGHUE MN. 2007). Os dermatologistas ainda subdividem a radiação UVA em UVA-I (400-340 nm) e UVA-II (340 – 320 nm). Essa divisão decorreu da observação de que a radiação UVA-II é semelhante à UVB por seu efeito eritematogênico, Ou seja, o potencial de causar queimadura de pele, bem como o de alterar o sistema imune e o de causar câncer de pele. A UVA-I apresenta maior profundidade de penetração do que a UVA-II, chega a atingir, além da epiderme e a derme média, estruturas vasculares. Estudos prospectivos mostraram que mesmo em dose sub-eritematosa a UVA-I lesa o DNA podendo induzir ao câncer de pele (ANDRADE, 2008).

➤ **UVB (280 a 320 nm)**

A radiação UVB atinge toda a superfície terrestre após atravessar a atmosfera. Possui alta energia e, com grande frequência, ocasiona queimaduras solares. Também induz o bronzeamento da pele, sendo responsável pela transformação do ergosterol epidérmico em vitamina D, e causa o envelhecimento precoce das células (RUVOLO, 1997; STEINER, 1995). A exposição frequente e intensa à radiação UVB pode causar lesões no DNA, além de suprimir a resposta imunológica da pele. Desta forma, além de aumentar o risco de mutações fatais, manifestadas sob a forma de câncer de pele, sua atividade reduz a chance de uma célula maligna ser reconhecida e destruída pelo organismo (STREILEIN et al., 1994).

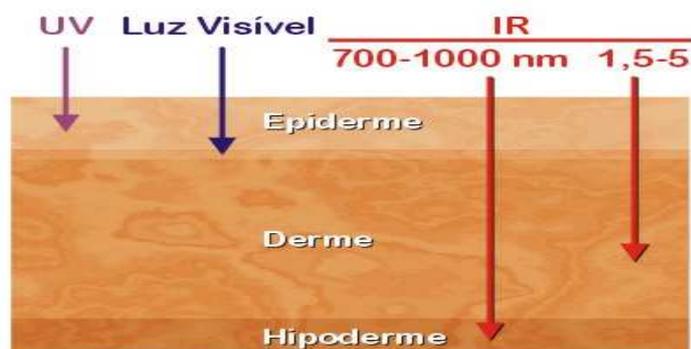
➤ **UVC (100 a 290nm)**

A radiação UVC é portadora de elevadas energias, característica que a torna extremamente lesiva aos seres vivos (STREILEIN et al., 1994, STEINER,1995). Devido à absorção pelo oxigênio e pelo ozônio na estratosfera, nenhuma radiação UVC, e pequena fração de UVB, chega à superfície da terra. A redução da camada de ozônio tem levado a um aumento da radiação UVB ocasionando maior incidência de queimaduras e, conseqüentemente, câncer de pele (ROY; GIES; TOOMEY, 1995).

1.2.1 Penetração dos raios UVB na pele

Os raios UV são quase totalmente absorvidos pelas primeiras células epidérmicas. A luz visível é bem mais penetrante, atravessando integralmente 0,6 mm de pele. Os infravermelhos (IR) calóricos são mais penetrantes, porém perdem gradualmente esta propriedade à medida que aumenta a longitude de onda. A radiação penetra na pele de maneira irregular, pois a mesma possui muitas camadas que também são dispostas irregularmente (Fig. 4). A penetração da radiação vai depender também de fatores individuais de cada pessoa, como a raça, as regiões do corpo afetadas, a cor e outros. A espessura da camada córnea representa um fator muito importante e explica o comportamento sensível da pele da planta dos pés e da palma das mãos em relação à radiação solar (MARTINS, 2001).

Figura 4- Esquema da penetração dos raios solares nas camadas da pele alcançadas pelos raios UV, Luz Visível e Infravermelho.



Disponível em: http://www.ck.com.br/materias/2001_09_arquivos/0901.htm

Ao atingir a pele desprotegida, com ação cumulativa a radiação UV provoca um processo complexo associado a reações químicas e morfológicas.

Pode ocorrer formação de espécies reativas de oxigênio, alterações histoquímicas de diferentes gravidades, espessamento da camada espinhosa e retificação da junção dermoepidérmica (WILKINSON, MOORE, 1990, PATHAK, 1997; PALM, 2007; SGARBI et al., 2007; GONZALES et al., 2008). A epiderme e a derme sofrem alterações químicas e histológicas após exposição solar persistente o que favorece o surgimento acelerado de rugas, aspereza, ressecamento, teleangectasias, pigmentação irregular, imunossupressão e lesões que podem ser benignas, pré malignas ou malignas (NELSON, 2006; SGARBI et al., 2007; GONZALES et al., 2008).

A incidência do câncer de pele vem crescendo rapidamente nas últimas décadas, superando até mesmo o câncer de mama, próstata e pulmão, tornando-se um grave problema de saúde pública, uma vez que interfere na qualidade de vida da população (WHO, 2001) 2010. Nos EUA a American Cancer Society relatam que cerca de 76.100 novos casos de melanoma foram diagnosticados em 2014.

As taxas de melanoma têm aumentado nos últimos 30 anos e este é mais de 20 vezes mais comum em brancos do que em afro-americanos. Em geral, o risco de contrair melanoma é de cerca de 2% (1 em 50) para os brancos, 0,1 % (1 em 1.000) para os negros, e 0,5 % (1 em 200) para hispânicos.

O melanoma cutâneo é um tipo de câncer de pele que tem origem nos melanócitos (células produtoras de melanina substância que dá a cor da pele) e tem predominância em adultos brancos. Embora o câncer de pele seja o mais frequente no Brasil e corresponda a 25% de todos os tumores malignos registrados no país, o melanoma representa apenas 4% das neoplasias malignas do órgão, apesar de ser o mais grave devido à sua alta possibilidade de metástase. O prognóstico desse tipo de câncer pode ser considerado bom, se detectado nos estágios iniciais. Nos últimos anos, houve uma grande melhora na sobrevivência dos pacientes com melanoma, principalmente devido à detecção precoce do tumor. O número de mortes em 2010 foi 1.507, sendo 842 homens e 665 mulheres e em 2012 de 6.230, sendo 3.170 homens e 3060 mulheres (INCA, 2014), um aumento de mais de 400%.

Além do câncer outro dano importante acelerado pela exposição as radiações solares é o fotoenvelhecimento. A pele diferentemente de outros órgãos,

apresenta dois tipos de envelhecimento, o endógeno (intrínseco) e aquele causado pelo sol. O primeiro representa o envelhecimento inerente a todo organismo, comandado por fatores genéticos e o segundo é causado pela radiação solar. A pele não atingida pelo sol sofre modificações mais lentas e sutis (STEINER, 1995). O envelhecimento cutâneo ocorre de maneira cronológica ou natural, mas a pele, por se manter em contato direto com o ambiente, apresenta ainda danos decorrentes da exposição ambiental (FISHER et al., 2002).

A proteção solar, constante e diária, é recomendada desde a infância, para prevenir o envelhecimento e evitar o câncer de pele. O verdadeiro cuidado significa evitar danos precoces às células e, portanto, estancar o processo cumulativo. O filtro solar deve ser incorporado definitivamente ao arsenal terapêutico para a pele (STEINER, 1995).

Diversas sensibilidades de pele foram objeto de observação em pessoas expostas às radiações solares (FITZPATRICK & PATHAK, 1974).

Os resultados obtidos agrupam a pele humana em seis tipos diferentes (Fig.5), de acordo com as sensibilidades demonstradas. Esta classificação tem sido utilizada como guia prático em tratamentos por radiações em fotoquimioterapia e em fototerapia (FERRARI, 2002).

Figura 5- Classificação dos tipos de pele, conseqüências da exposição solar

Fototipos da pele		Conseqüências da exposição solar
1	Pele clara, olhos azuis, sardentos	Sempre se queimam e nunca se bronzeiam
2	Pele clara, olhos azuis, verdes ou castanhos claros, cabelos loiros ou ruivos	Sempre se queimam e, às vezes, se bronzeiam
3	Média da cor de pele branca normal	Queimam-se moderadamente, bronzeiam-se moderadamente
4	Média da cor de pele branca normal	Queimam-se muito pouco, bronzeiam-se bastante
5	Pele morena ou parda	Raramente se queimam e bronzeiam-se muito
6	Pele negra	Nunca se queimam (profundidade de pigmentos)

Fonte: adaptado de TOVO (2004)

1.3 FOTOPROTEÇÃO

Segundo a RDC nº 30 de 1º de junho de 2012 (BRASIL, 2012), protetor solar é qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e lábios, com a finalidade exclusiva ou principal de protegê-la contra a radiação UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação. Desde que o primeiro fotoprotetor solar foi desenvolvido, em 1928, o uso de filtros solares se expandiu em todo o mundo. O quadro 1 destaca o desenvolvimento dos protetores solares (JANSEN et al., 2013). A necessidade do uso de protetores solares, também denominados fotoprotetores, é uma realidade indiscutível e acompanhando esta tendência o mercado oferece sua resposta (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Quadro 1- Histórico do desenvolvimento de Protetores Solares

Anos	Desenvolvimento
1628	Primeiro protetor solar usado comercialmente nos EUA: emulsão contendo benzil salicilato e benzil cinamato.
1933	Uma pomada contendo Ácido benzil sulfônico torna-se o primeiro fotoprotetor comercial disponível na Alemanha.
1936	O futuro fundador da L'Oreal, Eugène Schuller, pôs à venda o primeiro protetor solar comercial disponível na França, uma preparação oleosa contendo salicilato de benzila.
1938	Franz Greiter, o fundador da Piz Buin Company, desenvolveu um eficaz protetor solar na Austria, creme Gletscher, mais tarde ele aperfeiçoou e popularizou o conceito de FPS (1974).
1943	Ácido para amino benzóico foi patenteado.
1950s	Aumento da renda e maiores opções de deslocamento estimula o surgimento do mercado de protetor solar.
1956	Schulze inventa o FPS, permitindo a avaliação do desempenho do protetor solar.
1970s	Introdução da oxibenzona com um filtro solar UVB/UVA de amplo espectro, a extensa divulgação do FPS na embalagem de protetores solares revoluciona mercado e os produtos agora são comparáveis com bases quantitativas.
1980s	Avobenzona, um filtro UVA, é aprovada no FDA dos EUA (1988, aprovada na Europa em 1978).
1990s-2000s	Atitude dos consumidores em relação à exposição solar muda e o público torna-se cada vez mais ciente do potencial dano da radiação solar.
2000s-2010s	O papel dos protetores solares expandem de mera proteção contra queimaduras solares e são incluídos em profilaxias da saúde.

Fonte: JANSEN et al., 2013.

A utilização de fotoprotetores é a principal abordagem cosmética contra os efeitos nocivos da radiação UV. Estudos diversos evidenciam que o uso adequado e regular de fotoprotetores reduz o número de casos de queratose

actínica, carcinoma de células escamosas e atenua o desenvolvimento de novos nevus em crianças. Adicionalmente, o uso regular de fotoprotetores evita o envelhecimento precoce da pele (PALM, 2007; LAUTENSCHLAGER et al., 2007; GONZALES et al., 2008; BARON et al., 2008)

Segundo Gonzales e colaboradores (2008) fotoproteção é um elemento profilático e terapêutico frente aos efeitos danosos da radiação UV. A aborgadem é realizada por meio do uso de protetores solares, vestimentas protetoras e exposição restrita à luz solar. A primeira linha de defesa contra estes efeitos nocivos é a utilização dos fotoprotetores. Eles podem ser compostos por vários filtros inorgânicos e orgânicos. Os filtros inorgânicos são bloqueadores físicos e os orgânicos absorvedores químicos.

1.3.1 Tipos de Filtros Solares

Os filtros inorgânicos formam uma barreira sobre a pele, refletindo, dispersando e absorvendo a luz UV (LOWE et al., 1997; MATHEUS; KUREBAYASH, 2002). Entretanto, o óxido de zinco e dióxido de titânio são materiais semicondutores. Desta maneira, os elétrons das moléculas inorgânicas, quando sob ação da luz UV, são excitados. Portanto, estes compostos também são capazes de absorver esta radiação. Na absorção a luz é convertida em outra forma de energia, como, por exemplo, o calor (LOWE et al., 1997).

O dióxido de titânio é capaz de absorver o UVB, mas não o UVA, que, dependendo do tamanho da partícula deste filtro inorgânico, é refletido. Por outro lado, o óxido de zinco tem a capacidade de absorver radiação ultravioleta em toda sua extensão (LOWE et al., 1997).

Na reflexão/dispersão a luz incidente nas partículas inorgânicas é redirecionada, refletindo de volta ou se espalhando por diferentes caminhos. Este processo é responsável pela translucidez e opacidade das partículas de filtros inorgânicos sobre a pele (RIBEIRO, 2006). Ambos, óxido de zinco e dióxido de titânio, são comercialmente disponíveis como pigmentantes regulares e micronizados (microfino, nanopartícula ou ultrafino).

Os filtros orgânicos atuam por absorção da radiação UV (KIRCHHOFF, 1995; WOLF et al., 2001). Porém, há substâncias orgânicas que têm a propriedade de absorver, dispersar e refletir ao mesmo tempo o UV (OSTERWALDER et al., 2000) Os filtros orgânicos são compostos aromáticos conjugados com um grupo carbonila. Em muitos exemplos, há um grupo doador de elétrons (grupo amino ou metoxila) nas posições *orto* ou *para* do anel do anel aromático (WOLF et al., 2001; RANGEL et al., 2002).

De acordo com sua estrutura química os filtros químicos sintéticos, apresentam a absorção máxima em regiões diferentes. Sendo assim os que absorvem no comprimento de ondas compreendido entre 290 a 320nm são considerados filtros solares UVB e os que tendem em absorver entre 320 a 400nm, são denominados filtros solares UVA (SCHAUDER & IPPEN, 1997; AIKENS, 2006). Vários extratos e óleos de plantas tem sido utilizados em produtos cosméticos como filtros solares, devido à ação fotoprotetora. Mas para isso, há necessidade que os mesmos apresentem, em sua composição, moléculas com estruturas semelhantes às dos filtros químicos sintéticos. A absorção máxima destes produtos não é muito bem definida porque são misturas de diferentes moléculas mais ou menos ativas. Porém, podem ser utilizados como potencializadores do FPS, um exemplo é o extrato de café verde, (BOBIN, RAYMOND, MARTINI, 1995; VELASCO DE PAOLA, 2001; FERRARI, 2002; RANCAN et al., 2002; FERRARI et al., 2007). Esta mesma relação tem sido feita para os filtros solares vegetais (GOOSSENS & LEPOITTEVIN, 2003). Portanto, as plantas que absorvem na região UV apresentam em sua composição, moléculas ativas semelhantes aos filtros químicos sintéticos (BOBIN, RAYMOND, MARTINI, 1995; RANCAN et al., 2002).

A resolução RDC 47/ 2006 lista os filtros UVs permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumarias no Brasil, bem como a concentração máxima de uso permitida para cada um deles (BRASIL, 2006). O metoxicinamato de octila (Eusolex 2292[®]) é um filtro solar orgânico com elevada capacidade de absorção da radiação UVB, especialmente na faixa de 300 a 310 nm, comprimentos de onda mais eritematógenos. A concentração máxima permitida é de 10% nas formulações (BRASIL, 2006). É usado, geralmente, em concentrações de 2 a 7,5% podendo ser incorporado a emulsões O/A e A/O. É prontamente dissolvido em óleo, fotoestável, praticamente inodoro e compatível com as bases cosméticas. Devido

sua solubilidade limitada em água este filtro é ideal para uso em formulações de protetores solares hidro resistentes (MUNDSTOK; FRASSON, 2005).

1.3.2 Fator de Proteção Solar (FPS)

A eficácia de um protetor solar é medida em função de seu fator de proteção solar (FPS), o qual indica quantas vezes o tempo de exposição ao sol, sem o risco de eritema, pode ser aumentado com o uso do protetor (MANSUR et al., 1986). Pode ser avaliado em testes *in vivo* ou *in vitro*. O valor do FPS para o teste *in vivo* é calculado através da Equação 1. Quanto maior o FPS maior será a proteção, ou seja, maior será o tempo que a pele ficará protegida frente à radiação UVB. Ressalta-se que o FPS é definido em função da radiação UVB causadora de eritemas.

$$FPS = \frac{DME \text{ (pele com proteção)}}{DME \text{ (pele sem proteção)}}$$

Equação:1

Onde:

DME= dose mínima eritematosa, ou seja, dose mínima necessária para ocorrer o eritema.

Os testes *in vitro* são realizados preliminarmente ao teste *in vivo* como uma forma de selecionar o produto antes do mesmo passar pelo *in vivo*. Os métodos *in vitro* baseiam-se nas propriedades absorptivas ou refletoras do filtro apresentam vantagens como a rapidez de execução, o custo acessível, a reprodutibilidade, a facilidade no treinamento do operador, a não exposição do voluntário aos riscos entre outras (SAYRE, 2008; RAI & SRINIVAS, 2007).

Para a medida do FPS deve ser dada atenção especial à necessidade da aplicação correta do produto sobre a pele. Segundo Diffey (1996), o padrão quantitativo de protetor solar por área de pele necessária para medir o FPS em humanos é 2 mg/cm². Assim, a cada aplicação deverá ser usada a quantidade de 30 a 40 g do produto por um indivíduo adulto, de tamanho e peso normais.

Como os filtros solares absorvem apenas parte da região do ultravioleta (UVA ou UVB), para se ter uma proteção completa deve-se fazer uma combinação entre filtros, porém a combinação de diferentes tipos de filtros pode causar alto grau de irritabilidade quando aplicados à pele (FLOR et al., 2007).

Analisando-se o mercado cosmético como um todo desde 2003, observa-se um crescimento médio de 12% ao ano, enquanto que somente o mercado de fotoprotetores cresce em média 35% ao ano (GUARATINI et al., 2009). Uma das tendências do mercado cosmético é o desenvolvimento de produtos com maior número de componentes de origem natural, especialmente os de origem vegetal, explorando de forma racional a biodiversidade brasileira).

1.4 FOTOPROTEÇÃO X PRODUTOS NATURAIS

Atualmente, pesquisas têm sido extensivamente realizadas com o intuito de desenvolver protetores solares que contenham produtos naturais em sua formulação. Tais pesquisas têm focado a utilização de espécies que possuam constituintes químicos que contenham cromóforos, anéis aromáticos e demais compostos com possível atividade antioxidante (POLONINI et al., 2011). Dentre estes destacam-se as substâncias fenólicas, principalmente os flavonoides (OLIVEIRA- JR et al., 2012; SANTANA et al., 2012; SOUZA et al., 2005).

A tendência, no mercado mundial, de se utilizarem produtos de origem natural deve-se à grande aceitação pela população a ao apoio da mídia em retratá-los como seguros e ecológica e politicamente corretos (AMER.; MAGED, 2009). Aliado a isso, os filtros naturais apresentam reduzidos efeitos indesejáveis e menor agressividade ao meio ambiente, em comparação com os filtros sintéticos (FERRARI et al., 2007). Portanto, é de grande importância a utilização de menores quantidades de filtros- UV espectro de proteção (VELASCO DE PAOLA et al., 2008). Proserpio (1976) ressalta a importância da utilização de produtos sintéticos e naturais juntos numa mesma fórmula, a adição apropriada de filtros naturais aos filtros sintéticos produz além de vantagens eudérmicas, uma excelente capacidade para absorver a radiação UV curta. Em geral os extratos vegetais, fornecem um complexo de substâncias

funcionais à pele, o que somente um derivado natural é capaz de fazê-lo (MANSUR, 2011).

O estudo de ativos naturais que possam atuar sinergicamente com os filtros solares químicos e físicos para a ampliação do FPS tem se intensificado nos últimos anos (VELASCO DE PAOLA et al., 2008; RAMOS et al., 1996). Estes estudos demonstraram boas expectativas com relação ao uso de substâncias fenólicas como filtros solares. Os polifenóis do chá verde são exemplos de substâncias naturais que vem sendo avaliadas por suas atividades fotoprotetoras (KATIYAR, 2003; ELMETS et al., 2001). Os extratos de plantas que contêm flavonoides (como, por exemplo, *Achillea millifolium*, *Hamamelis virginiana*, *Matricaria chamomilla*, *Mentha piperita* e *Salvia officinalis*), além do própolis, são capazes de absorver a luz ultravioleta, sendo que o espectro de absorção ultravioleta de um flavonoide normalmente determinados em etanol, metanol ou água, mostra em geral, dois picos máximos de absorção, um entre 240- 280 *nm* e outro a 300-550 *nm*, o que mostra a possibilidade de uso destes extratos como filtros solares em preparações fotoprotetoras (BOBIN RAYMOND, MARTINI., 1995).

Vários extratos e óleos de plantas têm sido utilizados em produtos cosméticos como filtros solares, devido sua ação fotoprotetora (VIOLANTE et al., 2009), estes derivados vegetais absorvem a radiação UVA/UVB, tendo absorção consideravelmente baixa (CABRAL, PEREIRA, PARTATA, 2011).

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Obter uma formulação fotoprotetora contendo extrato hidroalcoólico de uma planta do cerrado, *Lafoensia pacari* (*Lytraceae*) e avaliar sua capacidade de potencializar a ação com filtro químico estabelecido em um cosmético.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o FPS do extrato, do filtro químico e verificar se houve ou não uma aditivação do FPS;
- Avaliar a capacidade antioxidante do extrato de pacari por testes de DPPH e FRAP e dosar os teores de flavonoides e fenois totais do extrato de pacari;
- Manipular uma formulação contendo filtro químico e o extrato de pacari e verificar por comparações de varreduras e FPS determinados se houve aditivação da mesma;
- Realizar testes de estabilidade preliminar na formulação do fotoprotetor em condições extremas de temperatura e avaliar seus parâmetros organolépticos, físico-químicos, estresse térmico e o FPS no tempo zero e os parâmetros organolépticos, físico-químicos, e o FPS após ciclo gela-degela.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Material Vegetal

As folhas de *Lafoensia pacari* foram coletadas no município de Caldazinha/GO (16° 39' 54,5'' Sul, 49° 00' 03,9'' Oeste, 1100 m de altitude) no mês de dezembro/2011. O material vegetal foi identificado pelo Prof. Dr. José Realino de Paula da Universidade Federal de Goiás e uma exsicata foi depositada no herbário desta instituição sob registro UFG / 47581.

As folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 30 °C, trituradas em moinho de facas e armazenadas em freezer (CHAIBUB, 2013).

3.1.2 Matérias primas

- ✓ Polyacrylamide and C13-14 Isoparaffin and Laureth-7 (Focus gel 305[®] - Focus Química) Lote: A15 /1595 Validade: 01/2015
- ✓ Metylparaben (Nipagin[®] - Thaizhou Nuercheng Fine Chemical) Lote: M131219 Validade: 18/12/2016
- ✓ Disodium EDTA (Changhzou) Lote: ALL 49755 Validade: 07/12/2015
- ✓ Ethylhexyl Methoxycinnamate (Eusolex 2292[®] - Merck) Lote: 13072670A Validade : 02/2016

3.1.3 Equipamentos

- ✓ Cromatógrafo em fase líquida de alta eficiência Waters, com bomba quaternária, detector de arranjo diodos (DAD) 2998 e sistema de dados Enpower 2.0.
- ✓ Balança Analítica Ohaus® Modelo Adventurer capac. máx.:210g
- ✓ Balança Analítica Tecnal Mark 160 Classe II capac. máx.: 160g
- ✓ Analisador de umidade halógeno marca Ohaus® modelo MB35
- ✓ Banho de ultrassom Lavadora Ultra sônica Unique Ultra Cleaner
- ✓ Banho Maria com termostato
- ✓ Câmara climática SL-206 Solab
- ✓ Centrífuga PLC séries
- ✓ Centrífuga 3-18K SIGMA
- ✓ Condutivímetro TEC 4 MP Tecnal
- ✓ Cromatoplasmas de sílica gel com indicador de fluorescência (Macherey-Nagel)
- ✓ Espectrofotômetro (Cary 50, Varian)
- ✓ Espectrofotômetro Biospectro (modelo SP-220)
- ✓ Geladeira vertical Consul com freezer
- ✓ Lâmpada UVB fluorescente (modelo Philips TL/RS 40W Medical-Holand).
- ✓ pHgâmetro Tec-3MP
- ✓ pHgâmetro Digital PG 800 GEHAKA
- ✓ Picnômetros
- ✓ Potenciômetro PHTEK 48 mv modelo PHS-3E
- ✓ Revelador de Lâmpada UV 365nm
- ✓ Rotaevaporador R3 Büchi
- ✓ Viscosímetro de Brookfield, modelo Visco Basic Plus- FUNGILAB AS

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Preparação do extrato hidroalcoólico da *Lafoensia pacari*

Para obtenção do extrato hidroalcoólico foram utilizados dois métodos distintos, extração sob refluxo e banho de ultrassom. Em ambos os métodos empregados foram pesados e triturados 30 g de folha seca e colocadas em 200 mL de álcool a 70% e ao final procedeu-se a rotaevaporação para os extratos obtidos por refluxo em rotaevaporador 40 °C, 60 rpm, a fim de concentrar o extrato.

Para obtenção do extrato hidroalcoólico por refluxo foi utilizado balão de fundo redondo de 500 mL contendo pérolas de porcelana, adaptado a um condensador de bola acoplado a mangueiras para resfriamento, imerso em banho maria com termostato na temperatura de 90 °C por uma hora e outro por duas horas (BRASIL, 2010). Após extração, a quantidade de extrato obtida após filtragem foi de 135 mL, foi realizada a rotaevaporação para que o extrato obtido aumentasse a sua concentração. O volume final obtido foi de 90 mL.

Para obtenção do extrato hidroalcoólico de *L. pacari* por banho de ultrassom foi utilizado balão de fundo redondo, haste e garra para adaptação ao banho de ultrassom. Uma amostra foi submetida a trinta minutos de extração e outra a quinze minutos. O volume final obtido após filtragem foi de 115 mL.

3.2.2 Determinações físico-químicas do extrato hidroalcoólico de *L.pacari*

3.2.2.1 Determinação do pH

Foi realizada determinação potenciométrica do pH do extrato hidroalcoólico conforme preconizado pela Farmacopéia Brasileira (2010). Foi utilizado um potenciômetro, previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0. Os ensaios foram realizados em triplicata. O resultado foi apresentado como média e desvio padrão dos valores encontrados.

3.2.2.2 Determinação da Densidade Relativa

A densidade relativa média do extrato líquido de *Lafoensia pacari* foi determinada de acordo com a metodologia de picnometria descrita na Farmacopéia Brasileira (2010). Foram utilizados picnômetros limpos e secos, com capacidade de 5 mL, previamente calibrados. A densidade relativa foi determinada pela razão entre a massa da amostra e a massa da água, conforme Equação 2. O valor final foi obtido pela média de três determinações em temperatura de 23 °C. Foram realizados em triplicata. O resultado foi apresentado como média e desvio padrão dos valores encontrados.

$$\text{Densidade relativa} = \frac{m_e - m_p}{m_a - m_p} \quad \text{Equação 2}$$

onde:

m_e = massa do picnômetro + extrato

m_a = massa do picnômetro + água

m_p = massa do picnômetro vazio

3.2.2.3 Determinação do teor de sólidos

Para a determinação do teor de sólidos presente no extrato hidroalcoólico de *Lafoensia pacari* usou-se um analisador de umidade de aquecimento halógeno, 1 mL de amostra foi colocada em balança, e submetida a temperatura de 105 °C. A amostra foi analisada em triplicata, o valor obtido em percentual, no display da balança foi subtraído de 100%, resultando em teor de sólidos. O resultado foi apresentado como média e desvio padrão dos valores encontrados.

3.2.3 Caracterização farmacognóstica do extrato hidroalcoólico de *L. pacari*.

3.2.3.1 Determinação do perfil cromatográfico da matéria prima vegetal por Cromatografia em Camada Delgada Comparativa (CCDC)

Após a extração pelos dois métodos citados no item 3.2.1, foi realizada a CCD em cromatoplasas de sílica gel com indicador de fluorescência (Macherey-Nagel) segundo metodologia descrita por Wagner & Bladt (2001), com auxílio de capilar e cerca de 10 µL foi aplicado nas placas. Dentro de capela, em um vidro próprio para CCD foi colocada a fase móvel: acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água destilada (100:11:11:26) com papel filtro. Após eluição dos extratos, a placa foi seca em temperatura ambiente e revelada com NP (sigma) 1% em metanol e colocada sob lâmpada UV 365 nm.

3.2.3.2 Determinação do teor de fenóis totais (FT)

A determinação do teor de polifenóis totais (PT) seguiu a metodologia proposta por Hagerman e Butler (MOLE; WATERMAN, 1987 a, b) com modificações.

Este método baseia-se na reação de complexação dos compostos fenólicos presentes na amostra com uma solução de Cloreto Férrico (FeCl_3), que pode ser medida em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 510 nm.

➤ Preparação da curva padrão de ácido tânico

Pesou-se 100 mg de ácido tânico e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com 40 mL de metanol a 50% (v/v) e o restante com água destilada. Foram retiradas alíquotas desta solução sendo estas transferidas para tubos de ensaio contendo 2 mL de solução de Lauril Sulfato de Sódio (LSS) 1% (p/v) / AMP 2000 5% (v/v) / isopropanol 20% (v/v) e 1mL de solução de cloreto férrico (FeCl_3). Completou-se o volume para 4 mL com água destilada. Após agitação, foi deixada em repouso por 15 minutos e a leitura da absorbância foi realizada em 510 nm em espectrofotômetro Biospectro modelo SP-220.

➤ Doseamento de fenóis totais do extrato de pacari

Em tubo de ensaio, devidamente identificado, foram adicionados 10 µL do extrato em 1 mL de água, a 2 mL de solução de LSS/AMP 2000 e 1mL de solução de cloreto férrico. Os tubos, em triplicata, foram agitados e deixados 15 minutos em repouso. Em seguida fez-se a leitura das absorvâncias em 510nm. Utilizou-se como branco uma solução contendo 2 mL de solução aquosa de LSS /AMP 2000, 1mL de FeCl₃ e 1mL de água destilada.

Através da equação 3 o teor foi calculado.

$$\% \text{ fenóis} = \frac{x(\text{mg}) \cdot 100 \cdot 10^{-3} \cdot 10^2}{m(\text{g})} \quad \text{Equação 3}$$

3.2.3.3 Determinação do teor de Flavonoides Totais (Fv)

O teor de flavonóides totais (Fv) foi determinado, como equivalente de rutina (3-O-rutinosídeo-quercetina), um flavonol O-heterosídeo, utilizando o método proposto por Rolin et al. (2005), modificado.

➤ Preparação da curva padrão de rutina

Pesou-se 10 mg de rutina e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com metanol: ácido acético 0,02 M (99:1). Retiraram-se alíquotas em triplicata e transferiu-se para tubos de ensaio completando o volume para 2 mL com solução de metanol:ácido acético. Homogeneizou-se em agitador de tubos e a leitura das absorvâncias foi feita em 361 nm. Foi usada uma solução com a mistura de metanol: ácido acético 0,02 M como branco. Desta forma foi plotada uma curva de absorvância (u.a) em função da concentração da rutina (µg.mL⁻¹).

➤ Doseamento de flavonóides totais

Adicionou-se em tubo de ensaio 1400 µL da solução extrativa (metanol: ácido acético) + 600 µL do extrato, em triplicata, fez-se as leituras das absorbâncias em 361nm. Como branco foi utilizada uma alíquota de 2 mL de metanol:ácido acético 0,02 M (99:1) através da curva padrão de rutina e das diluições das amostras.

Através da equação 4 o teor foi calculado.

$$\% \text{ flavonóides} = \frac{x(\text{mg}) \cdot 200 \cdot 10^{-3} \cdot 10^2}{m(\text{g})} \quad \text{Equação 4}$$

onde: 200 = Fator de diluição.

3.2.3.4 Determinação do poder antioxidante do extrato pelo método da Captura do Radical Livre DPPH

O método DPPH (BRASIL, 2007) é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm, a atividade anti radical é definida como a capacidade antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50% (Efficient Concentration =EC₅₀ (mg/L). O DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico .

➤ Preparação da solução do DPPH

Solução de DPPH 0,06 mM:

Pesou-se 12 mg de DPPH em álcool metílico e completou-se o volume para 500 mL em um balão volumétrico com álcool metílico, homogeneizou-se e transferiu para um frasco âmbar.

➤ Determinação da atividade antioxidante total (AAT)

Pesou-se 3 balões de 25 mL e em seguida pesou-se os mesmos contendo 90 μL do extrato. Em tubos de ensaio foram preparadas cinco concentrações diferentes (20 a 100 $\mu\text{g/mL}$) e em triplicata. Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de qsp 100 μL de cada diluição do extrato para os tubos de ensaio contendo 3,9 mL da solução de DPPH e completou-se para 4 mL com uma alíquota de solução branco (álcool metílico) foi homogeneizado, ficou em repouso no escuro por aproximadamente 45 min. Após este período foram realizadas as leituras no espectrofotômetro em 515 nm usando álcool metílico como branco. A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, foi plotada uma curva com as absorbâncias no eixo Y e diluições (mg/L) no eixo x, determinando assim a equação da reta.

3.2.3.5 Determinação do poder antioxidante do extrato pelo método do FRAP

O método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) testa a força antioxidante do extrato, por meio da avaliação da redução do complexo ferritripiridiltriazina (Fe^{3+} -TPTZ) 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina, $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_6$, M.M 312,33 g/mol, a ferroso-tripidiltriazina (Fe^{2+} -TPZ), por redutores, em baixo pH.

➤ Preparação do Reagente FRAP

Combinou-se 25 mL de tampão acetato 0,3 M e 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM.

➤ Preparação da Curva Padrão do Sulfato Ferroso

A partir da solução de sulfato ferroso (2000 μM), foram preparadas em balões volumétricos de 10 mL, soluções variando a concentração de 500, 1000, 1500 e 2000 μM . Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 μL de cada solução de sulfato ferroso (500, 1000, 1500 e 2000 μM) para tubos de ensaio, acrescentou-se 270 μL de água destilada e misturou-se com 2,7 mL do reagente FRAP, homogeneizou-se em agitador de tubos e manteve-se em banho maria a

37 °C. Após 30 minutos realizou-se a leitura no espectrofotômetro em 595 nm usando o reagente FRAP como branco.

Foi plotada uma curva com as concentrações do sulfato ferroso no eixo x e as respectivas absorbâncias no eixo y e calculada a equação da reta.

➤ Determinação da Atividade Antioxidante Total (AAT)

Foram preparados tubos de ensaio em 5 concentrações diferentes em triplicata (20 a 50 µM). Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 µL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio, acrescentou-se 270 µL de água destilada e misturou-se com 2,7 mL do reagente FRAP, homogeneizou-se em agitador de tubos e manteve-se em banho-maria à 37 °C. Após 30 minutos realizaram-se as leituras em 595 nm utilizando o reagente FRAP como branco. A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições do extrato foi plotada a curva com a absorbância no eixo y e as diluições no eixo x, e foi determinada a equação da reta.

3.2.3.6 Perfil cromatográfico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) do extrato

O extrato de pacari (0,01 mg/mL) foi submetido a cromatografia líquida de alta eficiência, em aparelho Waters, com bomba quaternária, detector de arranjo diodos (DAD) 2998 e sistema de dados Enpower 2.0. Foi utilizada coluna C18, 250 x 4,6 mm, vazão de 1 mL por minuto, volume de injeção de 10 µL, temperatura a 25 °C detecção máxima a 254 nm e fase móvel composta por metanol e água (15:85) em modo isocrático (OLIVEIRA, 2014).

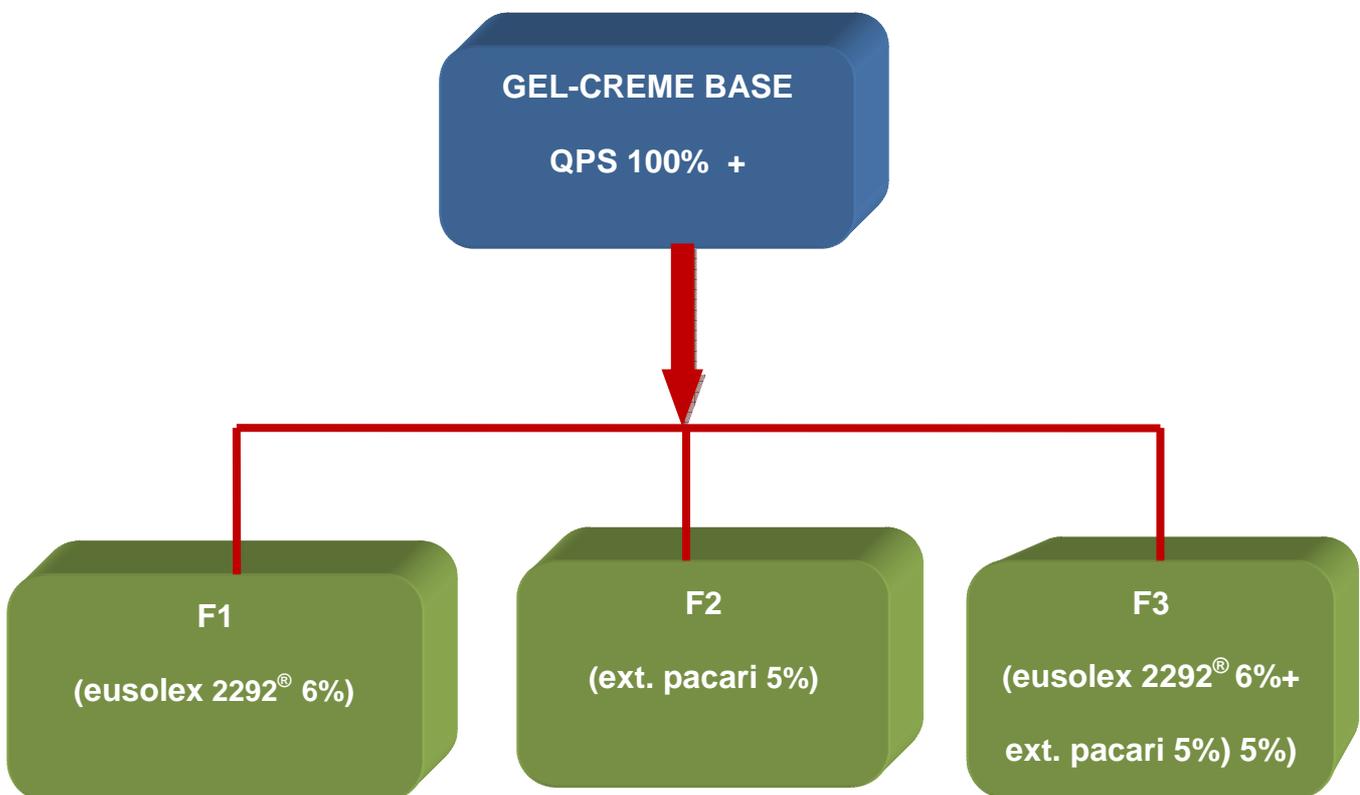
3.2.4 Obtenção das formulações cosméticas

Tanto a base como as formulações contendo extrato e eusolex foram manipulados de acordo com o Manual de Boas Práticas em Manipulação segundo

RDC 67/2007 (BRASIL, 2007). Para preparo do gel-creme base, foram utilizados 5% de Focus gel 305[®], 0,15% de Metilparabeno, 0,1% de EDTA e água destilada quantidade suficiente para 100%. A água destilada foi aquecida a 70°C, o metilparabeno e o EDTA foram dissolvidos. Acrescentou-se aos poucos o Focus gel 305[®] a frio, até obtenção de um gel-creme branco, opaco, viscoso e brilhante.

O extrato e o filtro químico utilizados foram pesados e incorporados no gel base até perfeita homogeneização. As proporções utilizadas estão descritas na figura 6:

Figura 6- Esquema das formulações em gel-creme manipuladas nesse estudo



3.2.4.1 Determinação da viscosidade do gel-creme e das formulações F1,F2 e F3

A viscosidade foi determinada pelo Viscosímetro de Brookfield, foi usado spindle R-7 (CASTELI et al., 2008). As viscosidades do gel, e das formulações F1,

F2, F3 foram determinadas nas velocidades de rotação progressivamente mais baixas (60, 50, 30, 20 e 12 rpm) adotando-se como valor de viscosidade aquele verificado após 1 minuto de permanência na velocidade em questão, em triplicata.

3.2.4.2 Cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE) da F3 para monitoramento do perfil químico do extrato de pacari

Foi realizado a fim de confirmar a presença do extrato de pacari na formulação F3. Pesou-se 6 g da formulação, solubilizou-se inicialmente em 20 mL de álcool butílico, levou-se para o banho de ultrassom por 5 minutos, retirou-se o sobrenadante. Novamente foi colocado 20 mL por 5 minutos, repetiu-se por mais 2 vezes, completando o volume para 80 mL de álcool butílico, até total dispersão do extrato no solvente

Colocou-se o líquido extraído em funil de separação e lavou-se com 10 mL de água. Após a separação da fase aquosa contendo o extrato foi realizada a cromatografia líquida de alta eficiência, em aparelho Waters, com bomba quaternária, detector de arranjo diodos (DAD) 2998 e sistema de dados Enpower 2.0. Foi utilizada coluna C18, 250 x 4,6 mm, vazão de 1 mL por minuto, volume de injeção de 10 µL, temperatura a 25 °C detecção máxima a 254 nm e fase móvel composta por metanol e água (15:85) em modo isocrático (OLIVEIRA, 2014).

3.2.7 Determinação Espectrofotométrica do Fator de Proteção Solar (FPS)

3.2.7.1 Determinação das varreduras do extrato de pacari e eusolex 2292[®]

Inicialmente foram determinadas as varreduras do extrato de pacari, do eusolex 2292[®], da mistura de ambos, do gel-creme e formulações. Os *scans* foram realizados no espectrofotômetro Cary 50, modelo Varian, no intervalo de comprimentos de ondas de 250 a 500 nm, contemplando a faixa de UVB (290-320 nm) pesquisada, foi utilizado álcool absoluto como branco.

3.2.7.2 Determinação do FPS do extrato de pacari e eusolex 2292[®] pelo método in vitro de Mansur (1986)

Segundo essa técnica foram preparadas, em triplicatas, concentrações do extrato de pacari e do eusolex 2292[®] em álcool absoluto, que foi também utilizado como branco, estas foram analisadas em espectrofotômetro Cary 50, nos comprimentos de onda de 290 a 320 nm, em intervalos de 5 em 5nm. Utilizou-se a equação 5 para determinação do FPS e os valores de ponderações do quadro 2 foram empregados nos cálculos.

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

Equação 5.

Onde:

FC= Fator de Correção (= 10);

EE(λ)= Efeito eritematogênico da radiação solar a cada comprimento de onda (λ);

I (λ)= Intensidade da radiação solar a cada comprimento de onda (λ);

Abs (λ)= Leitura espectrofotométrica da absorbância da solução da amostra a cada comprimento de onda (λ)

Quadro 2. Ponderação empregada no cálculo do FPS segundo Método de Mansur.

Comprimento de onda (nm)	EE x I (normalizado)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

3.2.7.3 Construção das curvas de Concentrações X Absorbâncias

Para o extrato de pacari foram utilizadas as concentrações: 0,01; 0,015; 0,02; 0,025 e 0,03 mg/mL, para o eusolex 2292[®] as concentrações utilizadas foram 0,002; 0,004; 0,006; 0,008; 0,01 mg/mL, ambas em triplicata. Após a construção das curvas foi determinado o FPS da mistura do extrato de pacari e do eusolex 2292[®] com as concentrações de 0,025 e 0,006 mg/mL, em triplicata, respectivamente. A mistura foi realizada dobrando-se as concentrações do filtro químico e do extrato de Pacari, a amostra analisada continha 50% de cada uma diluída em etanol absoluto, foi determinado de acordo com item 3.2.7.2 e foi usado álcool absoluto como branco.

3.2.7.4 Determinação do FPS *in vitro* do gel-creme e formulações F1, F2 e F3

Para a determinação do FPS do gel base e das formulações (gel-creme, F1, F2, F3) foi pesado 0,5 g de cada amostra e diluído para 50 mL em álcool absoluto (solução mãe), levando-se para banho de ultrassom por 15 min,. e em seguida esta foi filtrada, foram realizados diluições até que se permitissem as leituras. O FPS foi determinado, em triplicata, segundo item 3.2.7.2, usando álcool absoluto como branco.

3.2.7.5 Determinação do FPS *in vitro* do gel-creme F3, após 90 dias, em três temperaturas de armazenamento (5°, 25° e 40°)

Foi determinado FPS das formulações armazenadas em condições de temperaturas de 5 °C, 25 °C e 40 °C \pm 2, após 90 dias, em triplicata segundo item 3.2.7.2.

3.2.8 Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS *in vitro*) por Espectroscopia por Reflectância Difusa

Estas análises foram realizadas pelo laboratório de Cosmetologia do departamento de Fármacos e Medicamentos da UNESP (LACOS) sob supervisão da Professora Vera Lúcia Isaac Rangel.

Para a determinação do fator de proteção solar (FPS) foi utilizado o equipamento Optometrics SPF-290S, seguindo-se as instruções do fabricante. Para isto, 110 mg de cada formulação foram aplicados sobre a fita Transpore[®] a fim de se obter um filme da amostra de 2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$. Em seguida, a amostra foi exposta à lâmpada de Xenônio, em uma faixa de comprimento de onda de 290 a 400 nm, possibilitando a determinação do fator de proteção solar pelo software (KALE et al., 2010). As leituras foram repetidas por doze vezes.

3.2.9 Testes de Estabilidade

Após manipulação de uma nova formulação a mesma foi submetida a diferentes condições de estabilidade a fim de avaliar a qualidade da mesma, em tempo zero, 24h após a manipulação e após doze dias do ciclo gela-degela em temperaturas de 45 °C e -5 °C, totalizando seis ciclos em cada temperatura, foram realizadas em triplicata (BRASIL, 2004). Todos os testes foram realizados para a amostra de gel-creme utilizada como branco.

3.2.9.1 Testes preliminares de estabilidade

Após 24h, tempo zero, da manipulação da formulação, classificada como estável macroscopicamente, amostras foram submetidas aos testes de estabilidade: centrifugação parâmetros físico-químicos (valor de pH, centrifugação, viscosidade, condutividade elétrica), parâmetros organolépticos (aspecto, cor, odor), estresse térmico e ciclo gela-degela (BRASIL, 2004). Foi realizada a determinação do FPS segundo item 3.2.7.2.

3.2.9.1.1 Teste de Centrifugação

Com auxílio da centrífuga, 10g de amostras contidas dentro de tubos falcon, em triplicata, foram submetidas à velocidade de 3000 rpm por trinta minutos (BRASIL,2004).

3.2.9.1.2 Avaliação de pH

Foi verificado pH de cada amostra em solução aquosa 10% p/v, em pHgâmetro Digital PG 800, previamente calibrado com soluções tampão de pH 4 e pH 7. Este experimento foi realizado em triplicata (BRASIL, 2010).

3.2.9.1.3 Viscosidade

Foram verificadas as viscosidades das amostras em triplicata, utilizou-se viscosímetro de Brookfield nas velocidades crescentes (12,20,30,50,60 rpm) e decrescente (60,50,30,20,12 rpm).

3.2.9.1.4 Avaliação das características organolépticas

Foram avaliados aspecto, cor e odor pelo método visual (características macroscópicas) (BRASIL, 2004).

3.2.9.1.5 Estresse térmico

Foi realizado segundo método proposto por Branconi et al. (1995). As amostras foram feitas em triplicata sendo submetidas ao aquecimento em banho termostaticado na faixa de temperatura 40 ± 2 °C a 80 ± 2 °C, sendo o intervalo de

aumento da temperatura de 5 em 5 °C. As amostras foram mantidas em cada quanto à separação de fases e suas características organolépticas (BRASIL, 2004).

3.2.9.1.6 Condutividade elétrica

Foram pesados 4g de cada amostra e solubilizados em 40 mL de água recém destilada. As amostras foram solubizadas em banho de ultrassom por 15 minutos. Foi realizada a leitura da condutividade elétrica em condutivímetro, realizado em triplicata.

3.2.9.2 Ciclo Gela – Degela

Cerca de 60g de cada amostra foi acondicionado em bisnaga de polietileno leitosa.

Iniciou-se o ciclo em câmara climática com temperatura de 45 °C sendo após 24h transferida para freezer a -5 °C, sendo repetido por seis dias em cada temperatura. Após o término do período de doze dias foram realizados os testes de pH, viscosidade, condutividade elétrica, características organolépticas e determinação do FPS.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MATERIAL VEGETAL

Lafoensia pacari A. St.-Hil. foi encontrada na região do Cerrado de Goiás . Apresentou-se como árvore variando de 1 a 3 metros de altura. Suas folhas são opostas cruzadas, de coloração verde-escuro e mais brilhantes na face adaxial, simples, coriáceas, elíptica, glabra e lisas, ápice e base obtusos, pecíolo curto e nervuras peninérveas (Fig.7). Uma característica útil na identificação da espécie *L.pacari* é o aspecto rugoso e escamativo da casca do caule (CHAIBUB, 2013).

Figura 7- Detalhe da folha de *Lafoensia pacari* (face adaxial)



Fonte: CHAIBUB, 2013

4.1.1 Preparo e caracterização do extrato hidroalcoólico do *L. pacari*

O teor do solvente escolhido para realizar as extrações pode interferir na quantidade esperada do componente a ser extraído. Para a extração do *Lafoensia pacari*, foi usado o álcool a 70% pois favorece a extração de polifenóis. A extração por solventes é frequentemente utilizado para o isolamento de antioxidantes e tanto o rendimento de extração e atividade antioxidante de extratos são fortemente dependentes do solvente, devido aos diferentes potenciais antioxidantes dos compostos com polaridade diferente (JULKUNEN-TIITO,1985; MARINOVA et al., 1997).

Dutra et al. (2008) demonstraram que para sementes de *Pterodon emarginatus*, a extração feita sob refluxo com etanol / água (70:30, v / v) apresentou o maior teor de polifenóis e foi considerado o método otimizado para a extração desse constituinte.

O extrato foi analisado quanto às características físico-químicas, os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Características físico-químicas do extrato de pacari

TESTES	RESULTADOS
pH	5,056 ± 0,006
Densidade relativa (g/mL)	0,9205 ± 0,01
Percentual de teor de sólidos (% p/v)	4,7 ± 0.017

Valores representados como média ± desvio padrão.

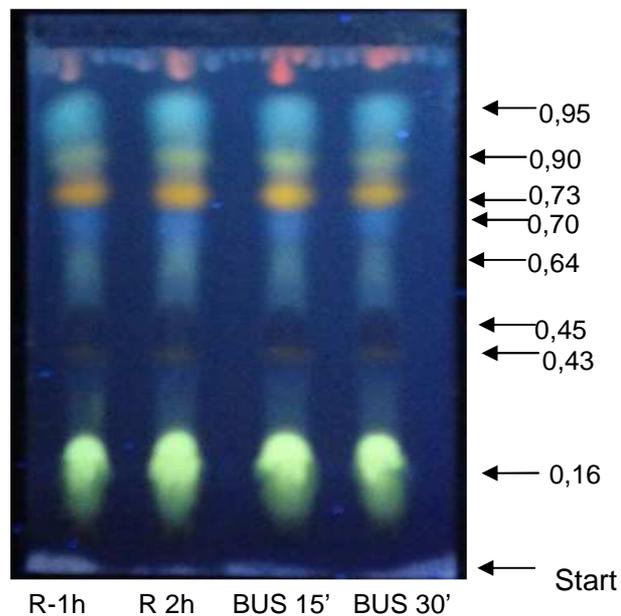
A pele possui pH levemente ácido (4,6- 5,8), portanto, o pH do extrato é compatível com a mesma.

A obtenção do extrato por meio de banho em ultrassom não é considerado um meio convencional, mas tem sido muito empregada atualmente. Baseia-se nos ciclos de expansão e compressão que as ondas de som causam no meio. O processo de expansão cria bolhas no meio, que atingem sua imensão crítica na outra fase de expansão. Na fase de compressão, por diferença de pressão interna e externa das bolhas ocorre sua implosão. Esse processo é conhecido como cavitação. Esse fenômeno próximo à parede celular do vegetal leva a sua ruptura, ocorrendo penetração do solvente e liberação de substâncias (KORN BORGES, 2003 *apud* CHAIBUB, 2013; LUQUE-GARCIA; CASTRO, 2003). Entre suas vantagens estão o reduzido tempo de extração, técnica simples, baixo custo, maior eficiência em relação às técnicas de extração convencionais. (LUQUE-GARCIA; CASTRO, 2003; *apud* CHAIBUB, 2013, SILVA; ARAGÃO, 2009).

4.1.2 Perfil cromatográfico em Camada Delgada Comparativa (CCDC)

Alíquotas de aproximadamente 10 µL de cada extrato obtido (refluxo e BUS) foram analisadas por CCDC. Foi utilizado o NP 1% em metanol como revelador e a placa foi colocada sob lâmpada de UV 365nm tendo como resultado uma eluição praticamente idênticas entre os dois processos extrativos, com bandas de cor amarela como indicativo da presença de flavonoides e azuladas indicativas de fenóis (Fig.8).

Figura 8- Perfil em CCDC das 4 amostras de *L.pacari* obtidas por refluxo (1 e 2h) e por banho de ultrassom (15 e 30 min)

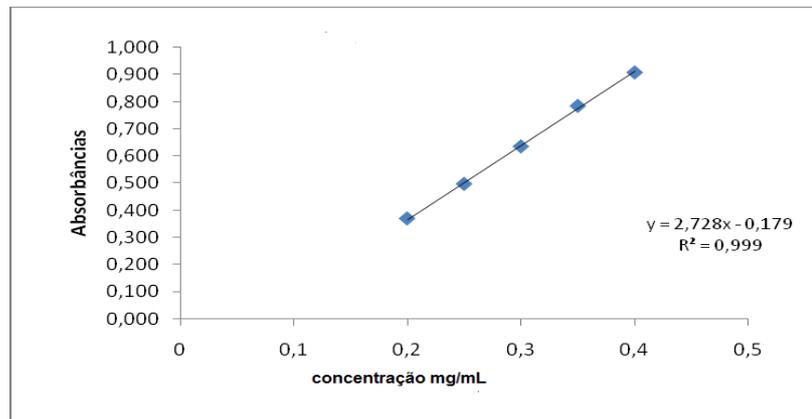


4.1.3 Determinação de Fenóis Totais (FT)

Para a determinação de fenóis totais foi determinada a curva Absorbâncias X Concentração do padrão de ácido tânico (Fig.9). Para a determinação do teor para o extrato de pacari foi utilizado como média das absorbâncias o ponto de leitura de 0,3 mg/mL em comprimento de onda de 510 nm em triplicata (apêndice A) resultando a média em 0,724. A concentração do extrato foi de 10 µL em 990 µL de água, totalizando 1 mL. Utilizando a equação da curva

para o padrão de ácido tânico: $y = 2,728 x - 0,179$, em que y = média das absorvâncias da amostra.

Figura 9- Curva padrão do ácido tânico para cálculo de fenóis totais no extrato de pacari obtido por ultrassom



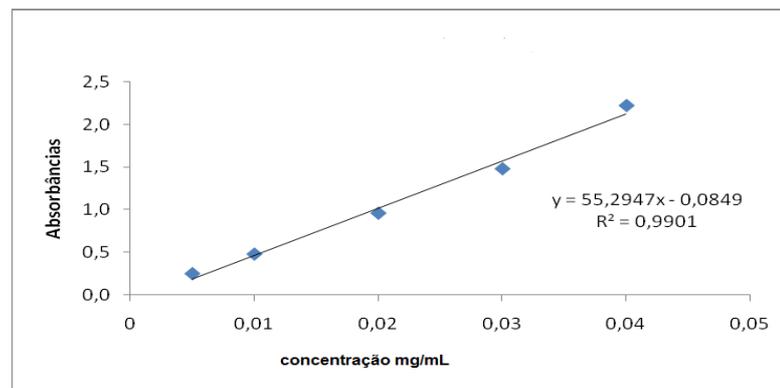
O resultado obtido para fenóis totais foi de 3,31%, as absorvâncias do extrato estão descritas no apêndice B. Rabelo; Paula; Bara (2013), encontraram valor médio de 7,96% de fenóis totais na casca da catuaba, sendo que este foi avaliado em extrato seco. Oliveira et al. (2012) quantificaram o teor de fenóis, em três diferentes amostras de extratos de própolis, identificados como amostras A, B e C os seguintes teores: 3,71% , 4,81% e 3,36%, respectivamente.

Os compostos fenólicos das plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides e outros (NACZ; SHAHIDI, 2004). Dentre as diversas classes de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos, sobretudo por inibirem a peroxidação lipídica (HASLAM, 1996; SOARES, 2002). A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (HASLAM, 1996; SOARES, 2002; CHUN et al., 2005).

4.1.4 Determinação do teor de Flavonoides Totais (Fv)

Para a determinação de flavonoides totais foi construída a curva Absorbâncias X Concentração do padrão de rutina (Fig.10). Para a determinação de flavonoides totais no extrato de Pacari foi utilizado como média das absorbâncias o ponto de leitura de 600 μ L (0,03 mg/ml) em triplicata, a concentração foi de 10 μ L em 1990 μ L da mistura de metanol + ácido acético completando o volume para 2 mL, resultando a média em 0,786 (apêndice C). Utilizando a equação da curva para o padrão de rutina: $y = 55,295 x - 0,0849$ onde $y =$ médias das absorbâncias.

Figura 10- Curva de calibração do padrão de rutina para cálculo do teor de flavonoides totais no extrato de pacari

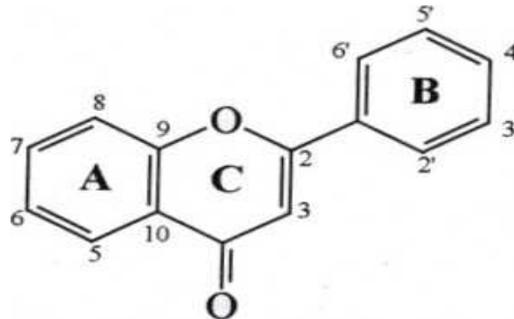


O resultado obtido para flavonoides totais foi de 0,315%, cujas absorbâncias são demonstradas no apêndice D. Oliveira et al. (2012), quantificaram o teor de flavonoides, em três diferentes amostras de extratos de própolis, identificados como amostras A, B e C os seguintes teores: 1,22% , 1,72% e 0,81%, respectivamente.

O resultado para flavonoides e fenóis do extrato de pacari aproxima-se do resultado obtido por Oliveira e colaboradores (2012), para a amostra C.

Segundo Zuanazzi et al. (2007), diversas funções são atribuídas aos flavonoides nas plantas, entre elas a proteção dos vegetais contra incidência de raios ultravioleta e visível, devido aos grupos aromáticos (Fig.11).

Figura 11- Estrutura química do núcleo central dos flavonóides e sua numeração.



Fonte: Zuanazzi et al., 2007

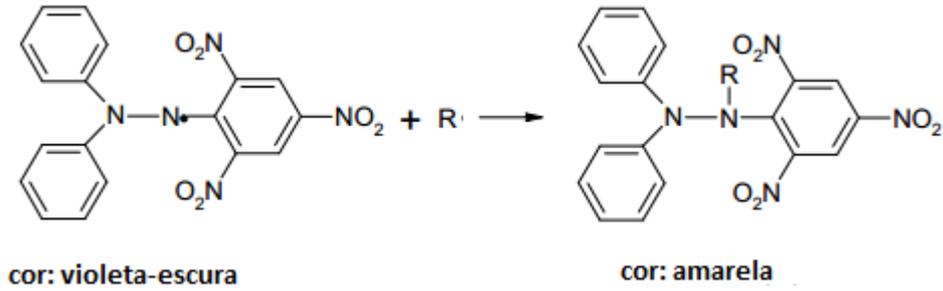
Estudos *in vivo* e *in vitro* tem demonstrado que os flavonoides inibem enzimas que estão envolvidas na produção de EROs, atuam como agentes quelantes contra metais envolvidos no metabolismo do oxigênio que aumenta a produção de EROs e são capazes de reduzir radicais gerados por meio da doação de elétrons a estes radicais. Segundo Velasco et al. (2008) os flavonoides não apresentam tendência à absorção cutânea, assim interpreta-se que a atividade seria exercida nas camadas superficiais da pele, ação desejada pelos filtros solares. Segundo Damiani et al. (2006) apud D'al Belo, (2008) muitas formulações contendo filtros químicos não proporcionam proteção, principalmente quando são considerados efeitos crônicos como: fotoenvelhecimento e fotocarcinogênese. Assim extratos vegetais ricos em constituintes fenólicos, como flavonoides, vem sendo empregados em formulações fotoprotetoras associadas aos filtros UV, uma vez que, comprovada sua capacidade de absorver a radiação solar e antioxidante podem intensificar a proteção final do produto e ou neutralizar os radicais livres produzidos na pele após exposição ao sol (NASCIMENTO et al., 2009; CHIU& KIMBALL, 2003 apud D'AL BELO; F'GUYER et al., 2003; KIM, 2002; BONINA et al., 2000).

4.1.5 Determinação do poder antioxidante do extrato pelo método da Captura do Radical Livre DPPH

O método do DPPH baseia-se na captura do radical DPPH por antioxidantes promovendo um decréscimo da absorbância a 515 nm (BRASIL, 2007). A solução, inicialmente lilás, à medida que o radical vai sendo capturado pelo

antioxidante, perde a coloração até tornar-se amarela quando o mesmo foi totalmente consumido.

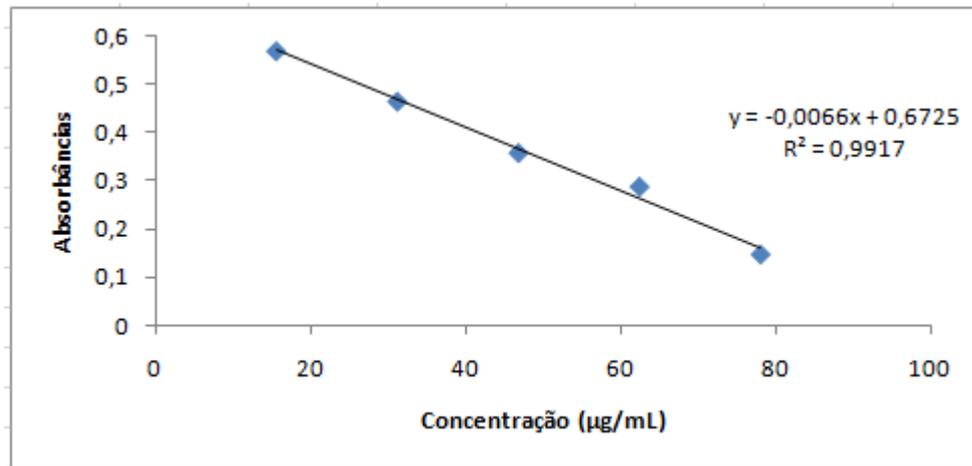
Figura 12- Estabilização do radical livre DPPH demonstrada pela mudança de coloração de violeta escura para amarela



Fonte: BRASIL (Embrapa-Comunicado Técnico on line nº 127, modificado)

O resultado é dado pelo EC_{50} que corresponde à quantidade necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH na amostra. Os valores das leituras para construção da curva (Fig. 13) se encontram no apêndice E.

Figura 13- Curva do extrato de Pacari para teste de DPPH para cálculo do EC_{50}



Para cálculo do EC_{50} foi utilizada a equação da curva da amostra, onde $y =$ absorbância inicial do controle/2. O resultado encontrado foi de $EC_{50} = 53,73 \mu\text{g/mL}$.

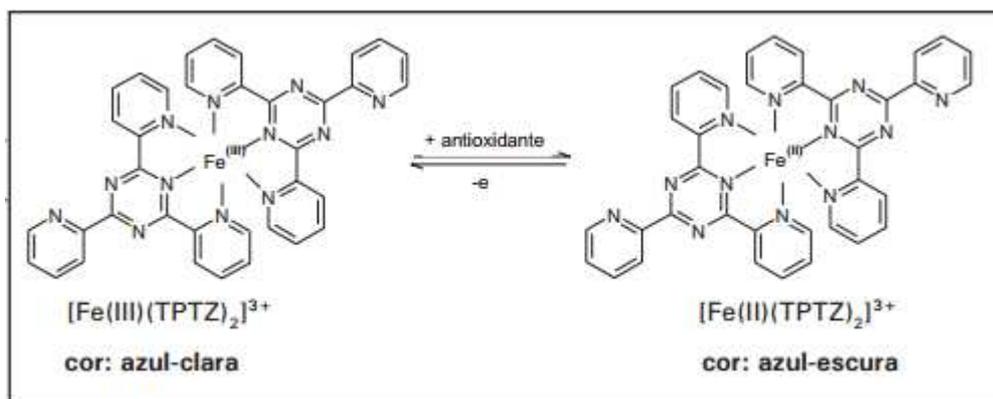
Foi feito o teste de DPPH do ácido ascórbico a fim de verificar o potencial antioxidante do mesmo, feito em triplicata o resultado obtido foi de $EC_{50} = 2,140 \mu\text{g/mL}$ e $R^2 = 0,998$.

A quantidade necessária para reduzir 50% do radical DPPH na amostra do extrato de Pacari é de 53,3 $\mu\text{g/mL}$. Garcia et al. (2011), determinaram a atividade sequestrante do radical DPPH do extrato de Própolis verde EC_{50} 80,64 $\mu\text{g/mL}$, para o extrato de Própolis vermelho EC_{50} 86,10 mg/L e extrato de *Pereskia aculeata* EC_{50} 56,64 $\mu\text{g/mL}$. Segundo Ross e Kasum (2002), a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos é determinada pela sua estrutura, especialmente pela facilidade com que um átomo de hidrogênio, a partir de uma hidroxila do anel aromático, pode ser doado a um radical livre, concluiu-se que o extrato de Pacari apresentou um resultado antioxidante superior aos testados no estudo de Garcia et al.

4.1.6 Determinação do poder antioxidante do extrato pelo método do FRAP

O método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Baseia-se no fato de que a habilidade de um composto em produzir Fe (II) a partir de Fe (III) define sua força antioxidante (BRASIL, 2006) produzindo uma mudança na coloração (Fig.14).

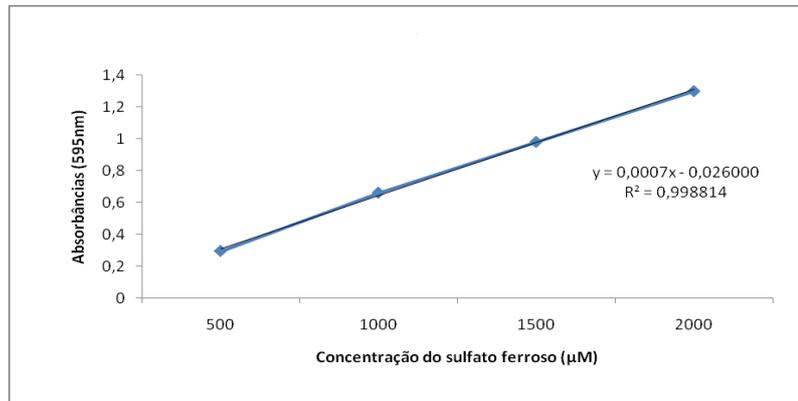
Figura 14- Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe^{3+}



Fonte: BRASIL (Embrapa-Comunicado Técnico on line nº 125)

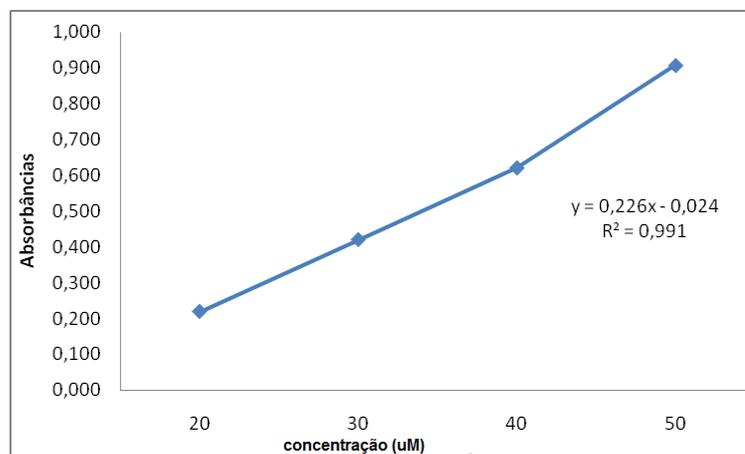
As leituras das absorbâncias para construção da curva padrão de sulfato ferroso estão no apêndice F (Fig. 15).

Figura 15- Curva padrão de sulfato ferroso(μM) para cálculo da atividade antioxidante pelo método de FRAP.



Após a construção da curva padrão foram realizadas as absorvâncias para o teste com a amostra do extrato de Pacari, nas concentrações de 20, 30,40 e 50 μM (apêndice G). Em seguida foi construída a curva da amostra do extrato de pacari (Fig. 16).

Figura 16- Curva do extrato de Pacari para determinação da atividade antioxidante pelo método FRAP



Utilizando a equação da curva do padrão de sulfato ferroso $y = 0,0007x - 0,026$ onde $x = 1000 \mu\text{M}$ de sulfato ferroso foi encontrado um valor de $y = 0,674$ e $R^2 = 0,9988$. Utilizando o valor de y da equação anterior foi utilizada a equação da curva para amostra $y = 0,226x - 0,024$ onde o valor encontrado foi de $3,09 \text{ mg/mL}$. Para valor de x (g) dividiu-se o valor encontrado por 1000, para encontrar o valor final que

é expresso em μM sulfato ferroso dividiu-se 1000 pelo valor anterior resultando em $323,62 \mu\text{M}$ de sulfato ferroso por g de extrato de Pacari.

O resultado mostra que 1 g do extrato de Pacari apresenta capacidade de redução de $323,62 \mu\text{M}$ de sulfato ferroso. Sucupira et al. (2012), demonstraram para o fruto da acerola o resultado pelo método de FRAP de $148 \pm 16 \mu\text{M}$ de sulfato ferroso g^{-1} , porém foi demonstrado que o extrato de pacari reduz cerca de 50% mais de sulfato ferroso que a mesma, corroborando seu poder antioxidante determinado anteriormente.

Segundo Damiani et al. (2006) a fotoestabilidade dos filtros solares sob a radiação UVB normalmente é alta, porém é menor na região do espectro de UVA. A fotodecomposição das moléculas dos filtros solares pela radiação UVA provoca o aumento da formação de radicais livres e outros intermediários reativos tóxicos e, conseqüentemente, o aumento dos danos induzidos diretamente pela UVA à pele. Por outro lado, a combinação dos filtros com substâncias antioxidantes, parece reduzir o efeito fotooxidativo. Assim, a utilização de extratos com atividade antioxidante, adicionados em formulações fotoprotetoras contendo filtros solares orgânicos pode possibilitar a redução de fotodanos como por exemplo o envelhecimento cutâneo. Extrato de pacari pode contribuir com a prevenção do envelhecimento celular. Novos estudos devem ser realizados de modo a estabelecer sua segurança de uso para prevenir e/ou tratar os danos induzidos pela RUV na pele (FORTE, 2012).

4.2 DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)

As determinações dos FPS foram realizadas segundo a técnica de Mansur et al. (1986), segundo item: 3.2.7.2

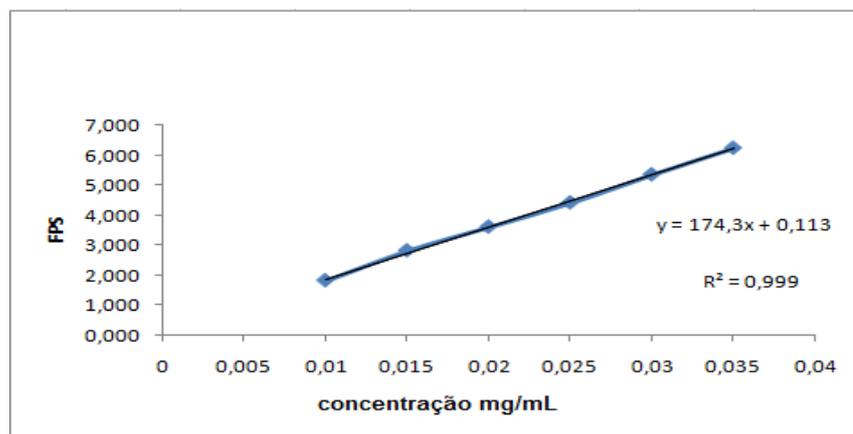
4.2.1 Determinação da curva de FPS do extrato de pacari e do eusolex 2292[®]

A fim de estabelecer a concentração a ser utilizada na formulação foram construídas as curvas de FPS X Concentração do extrato de pacari e do eusolex 2292[®]. Foram determinados os valores de 0,01; 0,015; 0,02; 0,025; 0,03 e 0,035 mg/mL do extrato de pacari, utilizando álcool absoluto como solvente e branco. Os FPSs foram determinados segundo Mansur et al. (1986) em triplicata. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 2 e a curva construída na Fig. 17

Tabela 2- Determinação do FPS para construção da Curva e determinação da concentração do extrato de pacari.

Concentração (mg/mL)	FPS 1	FPS 2	FPS 3	Média	DP
0,01	1,789	1,956	1,695	1,813	0,108
0,015	2,732	2,847	2,857	2,812	0,057
0,02	3,594	3,576	3,640	3,603	0,027
0,025	4,342	4,397	4,497	4,412	0,064
0,03	5,322	5,263	5,458	5,348	0,082
0,035	6,676	6,045	5,981	6,234	0,313

Figura 17- Curva para determinação da concentração do extrato de pacari

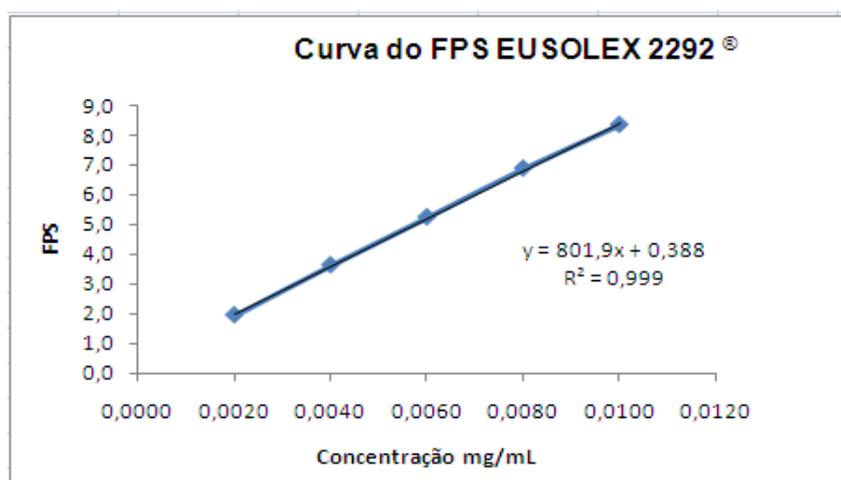


Seguiu-se o mesmo procedimento para o eusolex, as concentrações determinadas foram 0,002; 0,004; 0,006; 0,008 e 0,01 mg/mL. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 3 e a curva construída na Fig.18

Tabela 3- Determinação do FPS para construção da Curva e determinação da concentração do eusolex 2292[®]

Concentração (mg/mL)	FPS 1	FPS 2	FPS 3	MÉDIA	DP
0,002	1,9244	1,5517	2,3483	1,9415	0,2635
0,004	3,5197	3,6627	3,6823	3,6216	0,1011
0,006	5,1359	5,2627	5,3003	5,2330	0,0897
0,008	6,7065	6,8276	7,0721	6,8687	0,0857
0,01	8,0779	8,4326	8,5019	8,3375	0,2508

Figura 18- Curva para determinação da concentração do eusolex 2292[®]



4.2.2 Determinação dos espectros de absorção máxima do extrato de pacari e do eusolex 2292[®]

Após a construção das curvas, as concentrações selecionadas inicialmente para serem utilizadas na formulação foram de 0,025 mg/mL para o extrato e 0,006 mg/mL para o eusolex 2292[®], baseando-se no melhor ponto de leitura dos FPS e da manutenção da linearidade da curva. Foram realizados os *scans* nessas concentrações a fim de confirmar se haveria absorção na faixa de UV determinadas entre 250 a 500 nm, contemplando o intervalo de absorção entre 0,2 a 1,0 nm. Os resultados encontram-se nas Figs. 19 e 20.

Figura 19- Espectro de absorção do extrato de pacari®

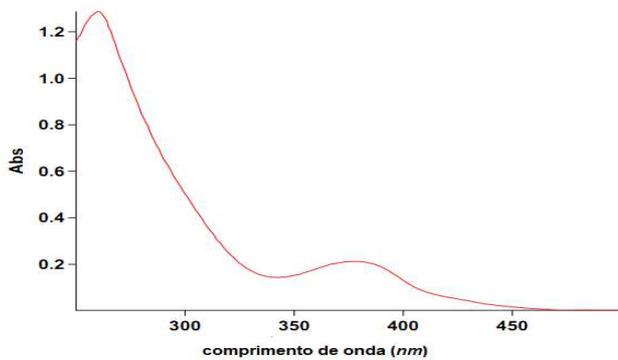
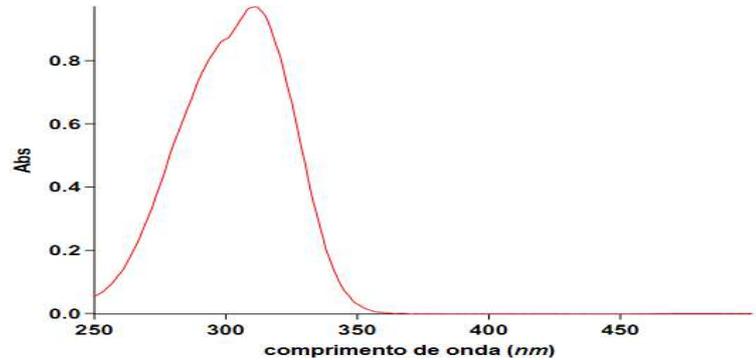


Figura 20- Espectro de absorção do eusolex 2292®



Os valores para comprimentos de onda máxima de absorção, 290 e 320 *nm* encontram-se na tabela 4.

Tabela 4- Espectro de absorção máxima e em λ de 290 e 320 *nm* do extrato de pacari e eusolex 2292®

Absorbância λ (<i>nm</i>)	Extrato de Pacari (λ máx.= 260)	Eusolex 2292 (λ máx.= 310)
Máxima	1,28	0,94
290	0,65	0,50
320	0,26	0,49

Bobin et al. (1994) descreveram que o espectro de absorção dos flavonoides quando dispersos em etanol apresenta-se tipicamente com dois picos, sendo um entre 240 a 280nm e o outro nos comprimentos de 300 a 550 nm. Esses resultados são semelhantes ao demonstrado na figura 20.

Pinto et al. (2013) determinaram o FPS pelo método espectrofotométrico de Mansur et al. (1986) dos extratos de *Ginkgo biloba*, *Hamamelis virginiana*, *Matricaria chamomilla*, *Pereskia aculeata* e própolis. Os extratos dos vegetais foram preparados a partir das folhas, na concentração de 0,2 μ L/mL foi utilizado o álcool 96% como branco e utilizando um filtro químico orgânico (Metoxicinamato de octila) como controle positivo. Os resultados de FPS obtidos foram: para *G.biloba* 0,82, *H. virginiana* 0,68, *M. chamomila* 0,56, própolis 0,64 e *P. aculeata* 0,69.

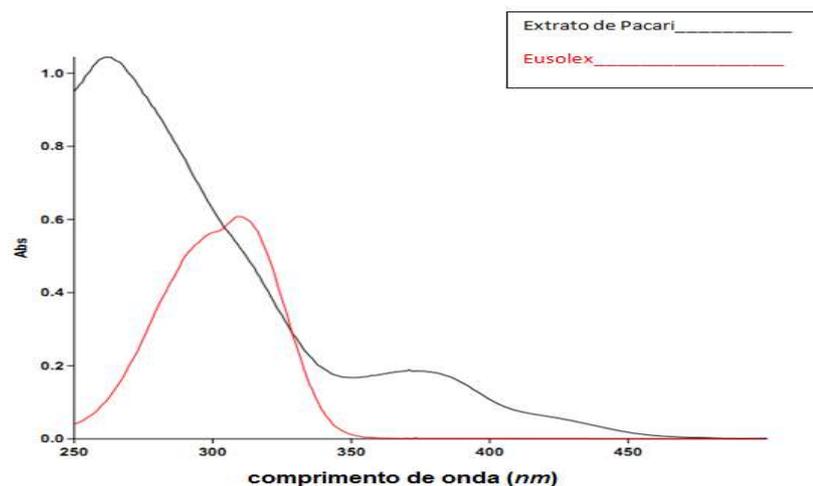
O resultado encontrado para o extrato de pacari foi de 4,41, na concentração de 0,025 mg/mL, bem superior à usada ao estudo de Pinto et al.

(2013), que manteve a concentração usada para o filtro químico. Ressalta-se que uma molécula sintética e purificada apresenta um comportamento bem diferente da composição de extratos vegetais que possui inúmeros compostos associados e que atuam por sinergismo (Zuanazzi et al., 2007).

Violante et al. (2009) determinaram o comprimento de onda máximo (λ max.) de 356 nm para as entrecascas do *Lafoensia pacari*, o que indica absorção na região UVA. Segundo Zuanazzi et al. (2007), os flavonoides encontrados nas folhas podem ser diferentes daqueles presentes nas cascas, flores, nos galhos, raízes ou frutos. O mesmo composto ainda pode apresentar diferentes concentrações dependendo do órgão vegetal em que se encontra. Isso pode justificar o resultado diferente encontrado para pacari.

O extrato de pacari contém um fitocomplexo com inúmeros outros componentes, o que torna seu comportamento diferente do eusolex 2292[®], um composto sintetizado e puro. A absorção máxima para o extrato, no λ de 260 nm mostra ser na faixa de UVC, porém contempla um intervalo de absorção dentro da faixa de UVB o que pode ser demonstrado no *scan* de sobreposição de ambos na Fig. 21

Figura 21- Sobreposição dos espectros de absorção do extrato de Pacari 0,025 mg/ mL e eusolex 2292[®] 0,006 mg/ mL.



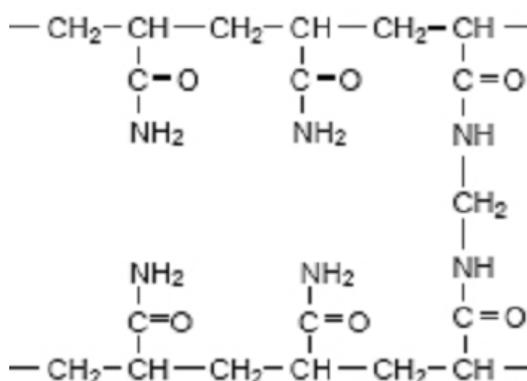
A concentração do eusolex 2292[®] é 10 vezes menor que a concentração do extrato de pacari, isto se deve ao fato do eusolex 2292[®] ser uma molécula química sintetizada e pura enquanto o extrato é formado por fitocomplexos.

4.2.3 Determinação das Varreduras e do Espectro de Absorção Máxima do Focus Gel 305 e das formulações F1, F2 e F3

Após as manipulações das formulações com as concentrações determinadas de 0,025 mg/ mL do extrato de Pacari e 0,006 mg/mL do eusolex 2292[®] procedeu-se a determinação das varreduras e espectro de absorção máxima do gel e das formulações.

A base escolhida para as manipulações foi o Polyacrylamide & C13-14 Isoparaffin & Laureth-7 (Focus gel 305[®]), uma base autoemulsionável que permite a formulação de emulsões O/A altamente estáveis, independente das características da fase oleosa. Usada nas concentrações de 0,5 a 5%, dependendo do resultado final desejado. Apresenta como vantagens ser solúvel em água, de fácil incorporação, promove texturas de gel-creme não oleosas, manipulação à frio, não necessita de agitação mecânica para pequenas quantidades, apresenta ampla faixa de pH de estabilidade de 2 à 11 (MATERIAL DO FABRICANTE FOCUS QUIMICA BRASIL, 2014). A estrutura do poliacrilamida é apresentada na figura 23.

Figura 22- Estrutura química do poliacrilamida

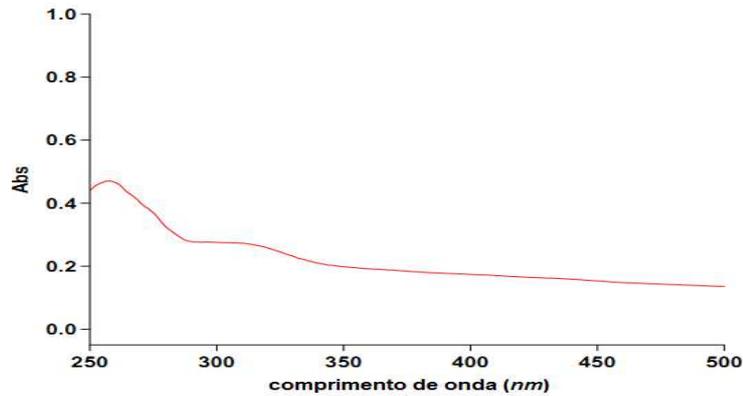


Disponível em: http://biomodel.uah.es/lab/sds-page/electro_def.html

Para verificar se a base não absorvia na região em estudo foi realizada a varredura nas mesmas condições padronizadas para os extratos das plantas garantindo assim que a absorbância resultante da leitura no teste *in vitro* seria exclusivamente do extrato em estudo (VIOLANTE et al., 2009). A varredura

apresentou resultado em λ máxima de absorvência em 257 nm de 0,47, em 290 nm de 0,2798 e em 320 nm de 0,2616, o scan encontra-se na Fig. 23

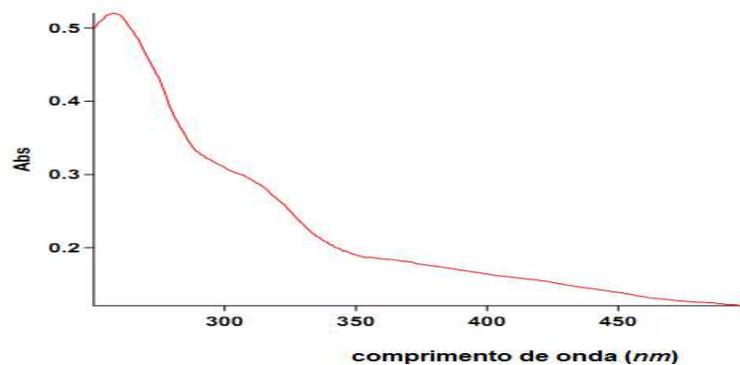
Figura 23- Espectro de absorção do Gel-creme



A concentração de 0,25% para o extrato de Pacari, primeiramente testada, não apresentou sensibilidade para a determinação espectrofotométrica o que foi confirmado pelo perfil cromatográfico por CLAE. A concentração foi aumentada em 200 x ficando em 5%, a concentração do eusolex foi determinada em 6%, baseada em faixas usuais descritas.

Os scans foram realizados para determinação dos intervalos de absorção, os resultados encontram nas Figs. 24, 25 e 26

Figura 24- Espectro de absorção da F2



Observa-se na Fig. 25 um deslocamento da banda de absorção (PAVIA, 2010) para comprimento de onda próximo a 300 *nm*, o que pode ser devido a uma intercalação de fenóis na malha do focus gel.

Figura 25- Espectro de absorção da F1

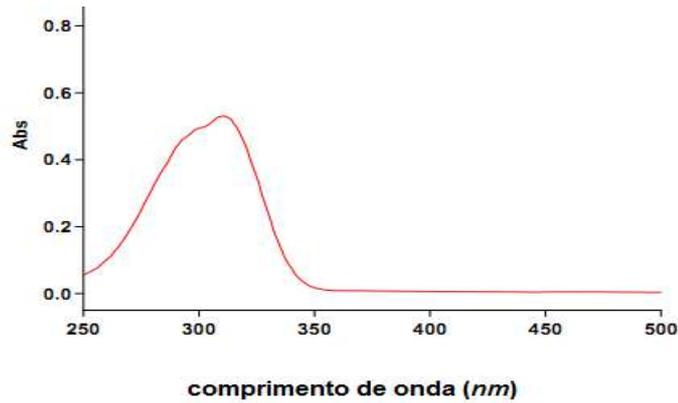
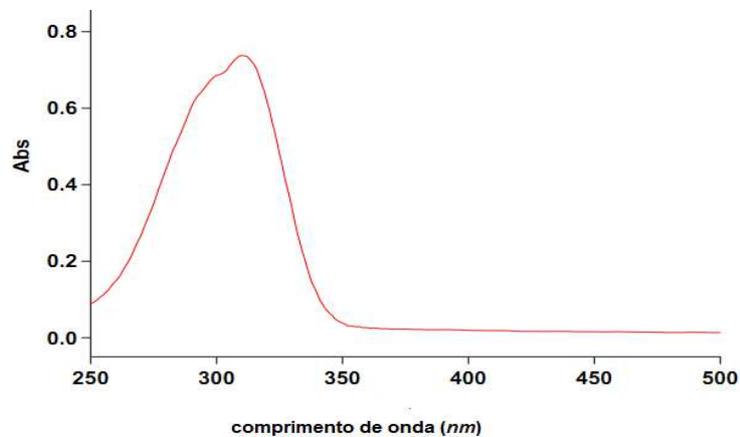


Figura 26- Espectro de absorção da F3



Os valores das absorções máximas e nos λ de 290 e 320 *nm* das formulações F1, F2 e F3 encontram-se na tabela 5.

Tabela 5- Espectro de absorção máxima e nos λ de 290 e 320 nm das formulações F1, F2 E F3

Absorbância	F1	F2	F3
λ (nm)	(λ máx.= 258)	(λ máx.= 310)	(λ máx.= 310)
Máxima	0,53	0,52	0,73
290	0,46	0,32	0,59
320	0,43	0,26	0,61

4.2.4 Determinação dos FPS das formulações F1, F2 e F3

Os resultados de FPS encontrados para o gel, F1, F2, F3 estão apresentados na Tabela 6, confirmam a aditivação do FPS pelo extrato de pacari na formulação com o eusolex 2292[®].

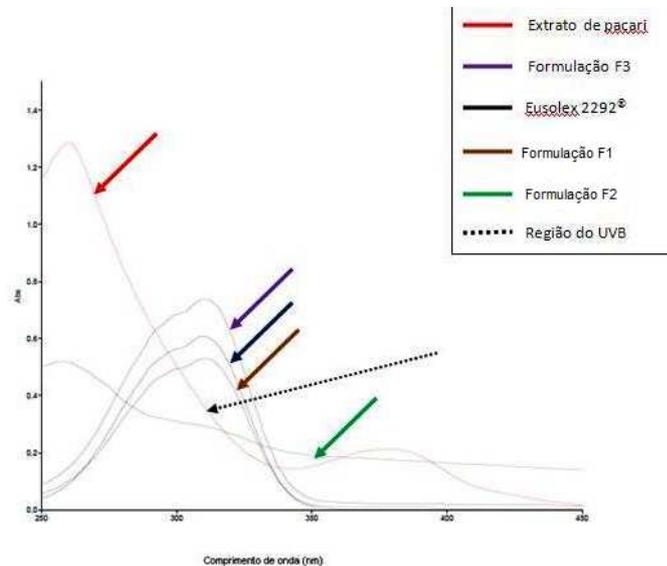
Tabela 6- Valores encontrados de FPS do gel e das formulações F1, F2 e F3

	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3	Leitura média	DP
Gel	1,22	1,27	1,26	1,26	0,0178
F1	5,58	5,33	5,21	5,37	0,1930
F2	2,36	2,14	2,21	2,23	0,1123
F3	7,20	7,34	7,34	7,30	0,0822

Pinto et al. (2013) determinaram o FPS de um creme base (não iônico) e um gel-creme (autoemulsionável - poliacrilamida) ambos contendo 2,5% de extrato de *Gingko biloba* e 2,5% do filtro químico metoxicinamato de octila. O resultado obtido foi de FPS= 1,25 para o creme e 1,08 para o gel-creme, e comparando –se os resultados obtidos para o extrato de pacari a 5% com o filtro químico eusolex 2292[®] de 7,3 há de se considerar que as concentrações dos extratos usados são as principais responsáveis pelos valores obtidos.

Apesar do λ máx. do extrato de pacari absorver no UVC é possível observar que há uma faixa de absorbância na região UVB e também UVA, a faixa de absorção no intervalo de λ 290 a 320 nm promoveu uma aditivação do FPS de gel + eusolex 2292[®] o que pode ser comprovado pelos FPS e pelo gráfico da sobreposição das formulações e matérias primas (Fig.27).

Figura 27- Sobreposição dos scans do extrato de pacari, eusolex 2292[®], F1, F2, F3, suas bandas máximas de absorção, destacando a área em que o extrato de pacari absorve na faixa da radiação UV



4.3. VERIFICAÇÃO DO FPS DAS FORMULAÇÕES PELO TESTE DE ABSORBÂNCIA DIFUSA JUNTO AO LACOS

4.3.1 Determinação do FPS pelo método de Reflectância Difusa

Outro método *in vitro* descrito na literatura para a avaliação de FPS de protetores solares envolve a técnica de reflectância difusa. A intensidade da luz incidida sobre os fotoprotetores como sistemas opacos se dá conforme uma distribuição hemisférica. A intensidade da radiação é maior na proximidade da incidência para a direção regular emitida. As leituras para a determinação do FPS pelo método de reflectância foram realizadas em tres formulações e repetidas por 12 vezes. Os resultados estão demonstrados na tabela 7.

Tabela 7- Determinação do FPS do gel e das formulações F1 e F3 pelo método de Reflectância Difusa.

	Gel base	F1	F3
	1,2	8,5	14,4
	1,2	9,3	12,80
	1,2	11,3	9,7
	1,2	11	9,2
	1,2	8,4	11,9
	1,1	8,8	9,8
	1,1	8,3	9,3
	1,2	8,6	11,5
	1,2	8,0	14,2
	1,2	8,6	11,5
	1,2	9,8	9,4
	1,2	8,3	9,7
MÉDIA	1,183333	9,075	11,1166
DESVIO PADRÃO	0,038924	1,083030	1,89968

Fonte: RANGEL, 2014

O resultado de FPS para o gel com extrato de foi 1,25, para o gel-creme com eusolex 9,07 e o gel-creme com extrato de pacari e eusolex 2292[®] de 11,11. O método de reflectância apresenta uma maior sensibilidade que método de Mansur et al., deve-se a isto o fato dos resultados apresentarem-se maior, porém demonstrou-se que a adição do extrato elevou o FPS da amostra de gel-creme com eusolex 2292[®] em ambos os métodos.

4.4 DETERMINAÇÃO DO FPS DA FORMULAÇÃO F3 ARMAZENADAS EM DIFERENTES TEMPERATURAS APÓS 90 DIAS.

As amostras da formulação F3 foram submetidas a três temperaturas 5 °C, 25 °C e 40°C ± 2 , por 90 dias, após fim do período, foram determinados o FPS e scan das formulações armazenadas nas 3 condições de temperatura a fim de confirmar a estabilidade do FPS (Tabela 8). Através da análise dos *scans*, apresentados nas figuras 28 a 30 podemos demonstrar que houve um pequeno

decréscimo na absorvância da formulação final frente às diferentes condições de armazenagem.

Figura 28- Espectro de absorção da formulação F3 após 90 dias a $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$

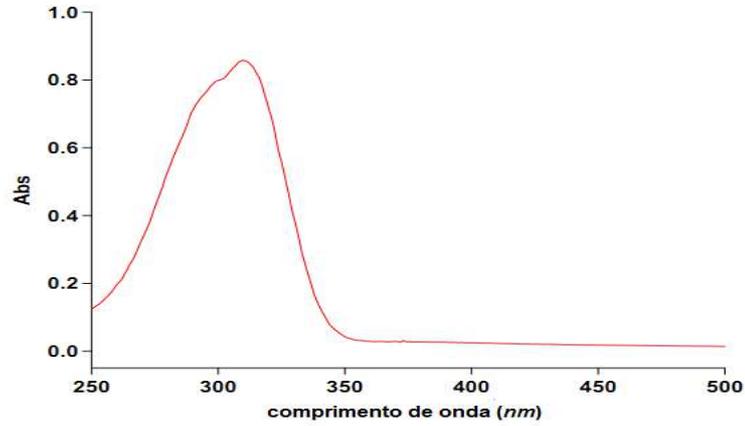


Figura 29- Espectro de absorção da formulação F3 após 90 dias a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$

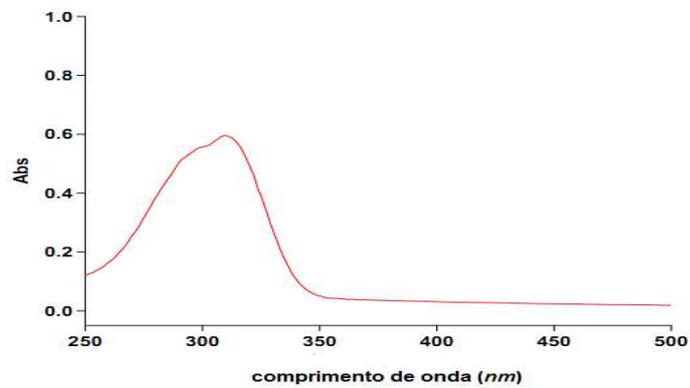
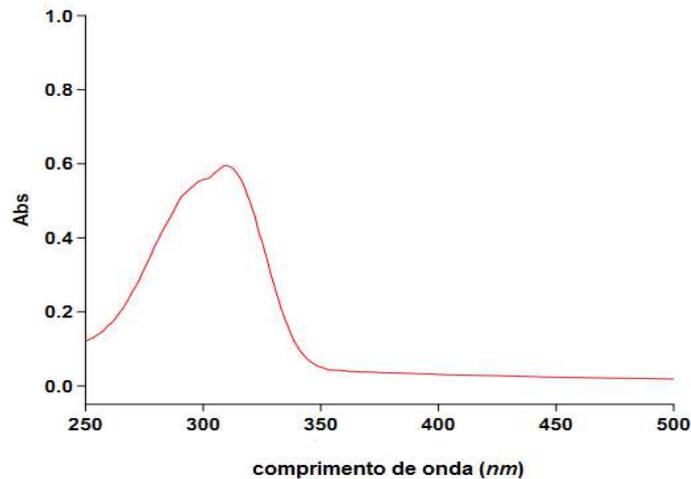


Figura 30- Espectro de absorção da formulação F3 após 90 dias em 40 °C ± 2**Tabela 8-** Leituras de FPS da formulação F3 após 90 dias de armazenamento em três condições de temperatura.

Temperatura (°C)	FPS 1	FPS 2	FPS 3	MÉDIA	DP	CV
5	7,12	7,08	7,1	7,1	0,0808	0,28%
25	4,93	4,89	4,93	4,92	0,0231	0,47%
40	5,06	5,05	5,03	5,05	0,0153	0,3%

Foi possível verificar que na temperatura de 5 °C ± 2 houve uma melhor estabilidade do valor de FPS em relação às outras temperaturas, o valor do FPS no tempo zero foi de 7,29, segundo BRASIL (2004) o limite de desvio padrão aceitável é abaixo de 10%.

Após verificação da queda do valor de FPS nas temperaturas de 25 e 40 °C sugeriu-se que o mesmo pudesse ser devido a uma instabilidade do extrato frente a essas temperaturas. Realizou-se novas leituras de FPS acrescentando no extrato de pacari 0,5% de vitamina E oleosa .As leituras foram realizadas no tempo 0, após 17 dias e 37 dias, permanecendo em temperatura ambiente, os valores encontram-se na tabela 9.

Tabela 9- Leituras de FPS do extrato de Pacari puro e adicionado com Vit. E 0,5% em três tempos diferentes em temperatura ambiente.

Amostra	Tempo		
	Zero	17 dias	37 dias
Extrato de Pacari	4,47	2,92	2,44
Extrato de Pacari + Vit. E 0,5%	4,77	5,06	4,58

4.5 PERFIL CROMATOGRÁFICO DO EXTRATO DE PACARI E DA FORMULAÇÃO POR CLAE

Foram determinados os cromatogramas do extrato de pacari e da formulação F3, o perfil químico por cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE) estão descritos nas figuras 31 a 37

Figura 31- Cromatograma do extrato de pacari (0,01 mg/mL)

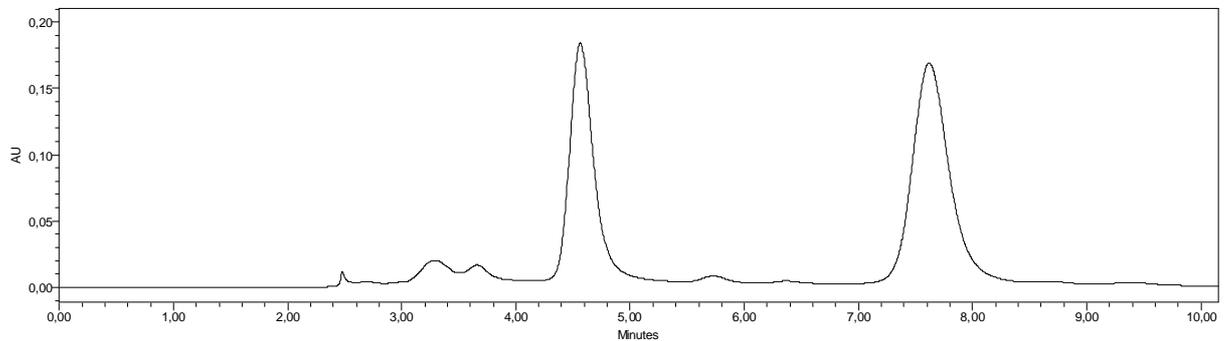


Figura 32- Cromatograma da formulação F3 (0,1 mg/mL)

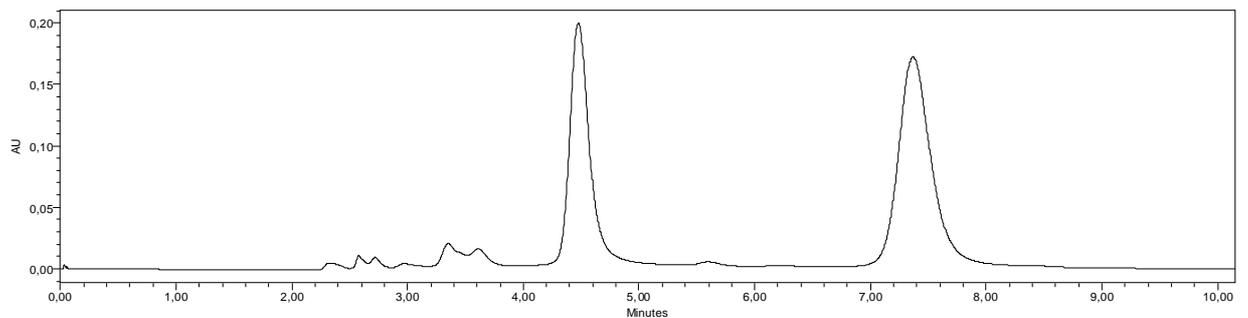
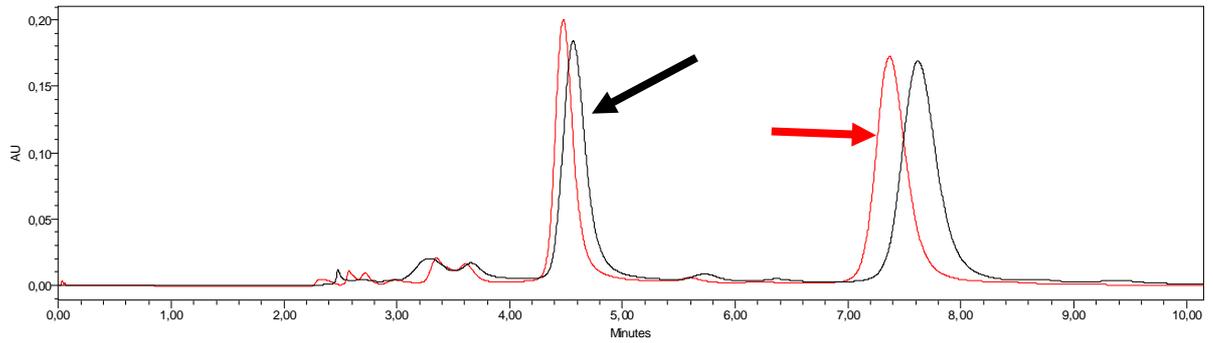


Figura 33- Sobreposição dos cromatogramas do extrato de pacari e F3



Foi possível verificar através da sobreposição que houve a manutenção da estrutura química do extrato de Pacari após adição do mesmo na formulação.

Figura 34- Varredura do primeiro pico do extrato de pacari

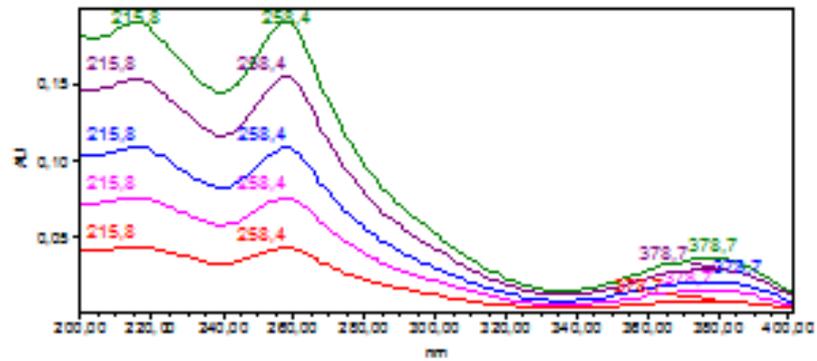


Figura 35- Varredura do segundo pico do extrato de pacari

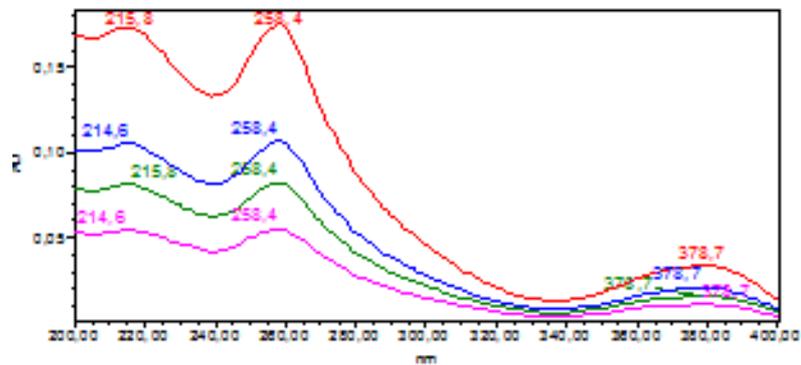


Figura 36- Varredura do primeiro pico da F3

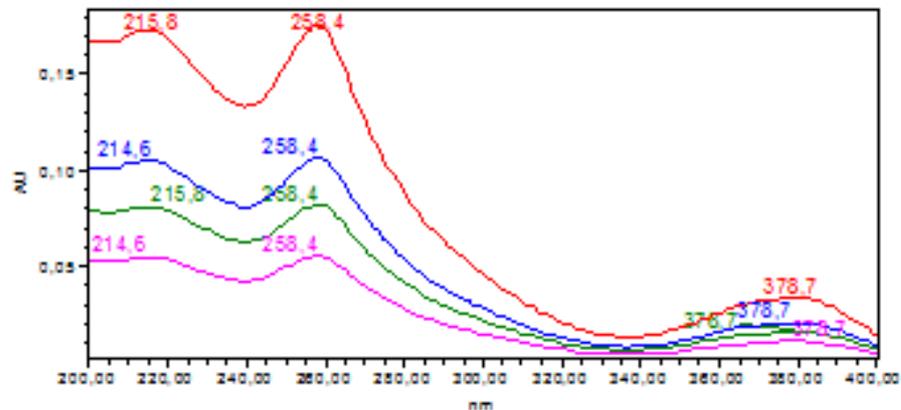
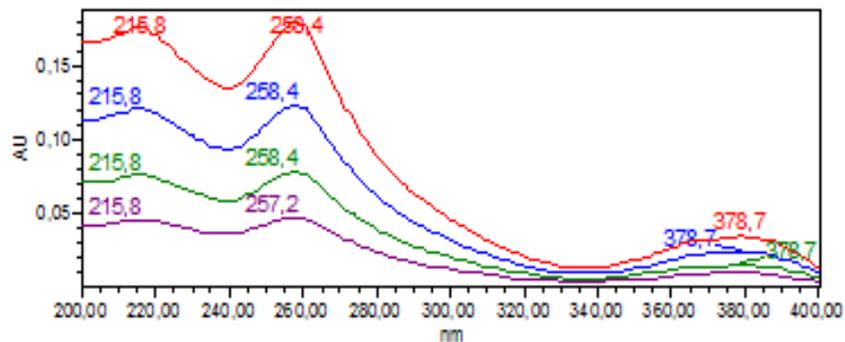


Figura 37- Varredura do segundo pico da F3



Os cromatogramas do extrato de pacari e da formulação F3 apresentaram dois picos, praticamente nos mesmos tempos de retenção. As varreduras no ultravioleta, entre 400 e 200 *nm*, também apresentaram padrão de máximos de absorvância semelhantes. Foi demonstrado que as substâncias presentes no extrato permaneceram presentes na formulação final.

4.6 VISCOSIDADE DAS FORMULAÇÕES

Viscosidade é a expressão da resistência de líquidos ao escoamento, ou seja, ao deslocamento de parte de suas moléculas sobre moléculas vizinhas (BRASIL, 2010). Foi verificada a viscosidade do gel puro e das formulações F1, F2 e F3 as leituras estão descritas nos apêndices H-K. Os resultados estão apresentados nas figuras 38 a 42.

Figura 38- Leituras das viscosidades do gel-creme

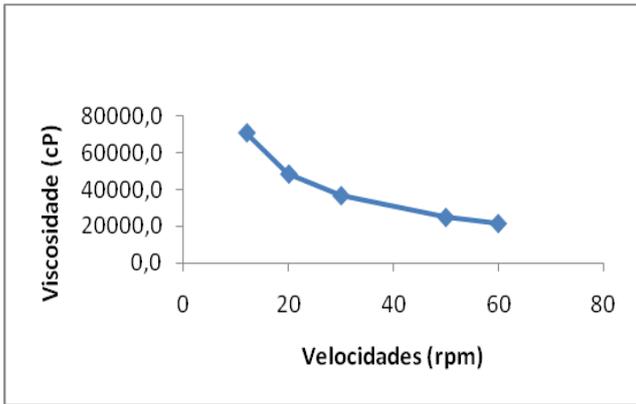


Figura 39- Leituras das viscosidades da formulação F1

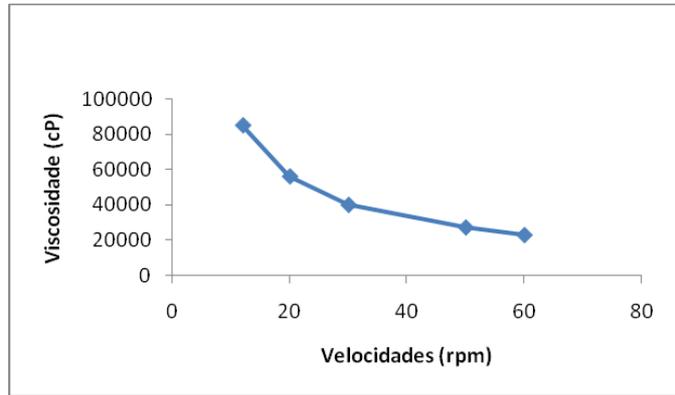


Figura 40- Leituras das viscosidades da formulação F3

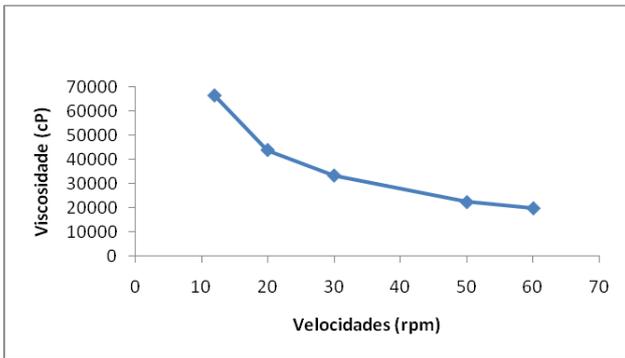


Figura 41- Leituras das viscosidades da formulação F2

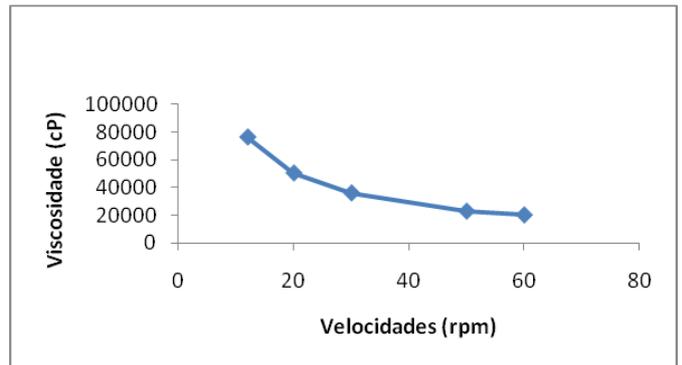
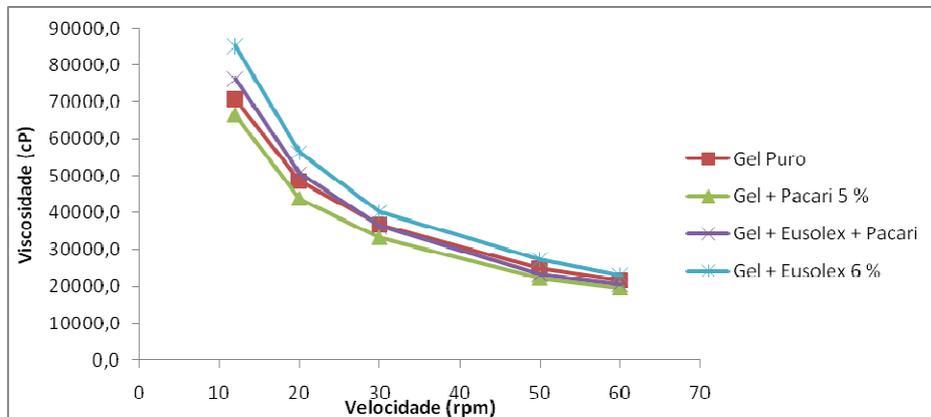


Figura 42- Sobreposição dos gráficos correspondentes às viscosidades do gel-creme, F1, F2 e F3



Conforme demonstrado na figura 42 o gel apresentou comportamento reológico não newtoniano, ou seja, pseudoplasticidade. Apesar de ter ocorrido uma pequena queda na viscosidade do gel ao adicionar o extrato, devido à presença de álcool no mesmo, a adição tanto do filtro químico quanto do extrato não alterou o comportamento reológico inicial do gel, tendo a formulação retornado instantaneamente ao seu aspecto inicial.

Corilli et al. (2007) em estudo da viscosidade em gel de carbopol 940[®] a 1 e 1,5% com extrato de cafeína a 5%, apresentou resultados para ambos um comportamento reológico não newtoniano, porém, comprovou-se que o aumento da viscosidade, em função do aumento da concentração de Carbopol 940[®] diminuiu a velocidade de liberação da cafeína.

4.7 ESTUDOS DA ESTABILIDADE

Antes de iniciar os Estudos de Estabilidade recomenda-se submeter o produto ao teste de estabilidade preliminar. O produto deve-se manter estável e qualquer sinal de instabilidade indica a necessidade de reformulação. Se aprovado neste teste o produto pode ser submetido aos testes de estabilidade acelerada. (BRASIL, 2004).

4.7.1 Estabilidade preliminar

Este teste também é conhecido como Teste de Triagem, Estabilidade Acelerada ou de Curto Prazo (BRASIL, 2004).

As amostras das formulações contendo o gel+ Eusolex 2292[®] + ext. de Pacari, em triplicata foram submetidas aos testes de centrifugação, estresse térmico e ciclo gela-degela, assim como o branco.

Os resultados para o tempo zero encontram-se nas tabelas 10 e 11. A seguinte nomenclatura foi empregada para classificá-las (RIBEIRO; KHURY; GOTTARDI, 1996):

N= normal

LM= levemente modificada

M= modificada

IM= intensamente modificada

Tabela 10- Resultados da centrifugação da formulação F3 e branco em 30 minutos.

VELOCIDADE (rpm)	CLASSIFICAÇÃO
3000	N

Tabela 11- Resultados do estresse térmico da formulação F3 e branco.

TEMPERATURA (°C)	CLASSIFICAÇÃO
40	N
45	N
50	N
55	N
60	N
65	N
70	N
75	LM
80	LM

4.7.1.1 Resultados para características físico-químicas no tempo zero e pós ciclo gela-degela

- As características organolépticas foram determinadas pelo aspecto macroscópico, a formulação F3 no tempo zero e pós ciclo gela-degela, apresentou-se com cor amarela, odor característico e aspecto turvo brilhante, o gel-creme apresentou-se com cor branca, odor característico e aspecto brilhante.

- Os resultados para os testes de pH estão mostrados na tabela 12 e 13

Tabela 12- Resultados para os testes de pH da formulação e branco no tempo 0.

Teste	Resultados
pH F3	4,69 ± 0,01
pH Branco	5,19

Valores representados como média ± desvio padrão para F3

Tabela 13- Resultados para os testes de pH da formulação e branco pós ciclo gela-degela

Teste	Resultados
pH F3	4,92 ± 0,036
pH Branco	5,19

Valores representados como média ± desvio padrão para F3

O resultado do teste T-($p > 0,05$) sendo $p = 95\%$ demonstrou que houve uma alteração no pH das formulações após a realização do ciclo.

- Os resultados para os testes de viscosidades são apresentados na tabela 14 a 17

Tabela 14- Resultados da viscosidade em velocidades decrescentes da formulação F3 em triplicata e do branco em cp no tempo 0

Velocidades(rpm)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	CV(%)	Branco
60	19525	20153	20235	1,94	24643
50	22808	22593	22645	0,49	28458
30	36028	36057	35120	1,49	42750
20	48087	48141	47992	0,16	58839
12	72470	72436	73025	0,46	81556

Tabela 15- Resultados da viscosidade em velocidades crescentes da formulação F3 em triplicata e do branco em cp no tempo 0

Velocidades(rpm)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	CV(%)	Branco
12	72876	71650	72247	0,91	79347
20	48673	47590	48369	1,16	54447
30	36072	35215	35558	1,21	40045
50	23212	22915	23110	0,65	27370
60	19450	19271	18990	1,21	23799

Tabela 16- Resultados da viscosidade em velocidades decrescentes da formulação F3 em triplicata e do branco em cp após ciclo gela-degela

Velocidades(rpm)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	CV(%)	Branco
60	19134	18990	19155	0,47	21245
50	20887	20973	21099	0,50	25344
30	34910	34870	35041	0,25	39984
20	46071	45998	45850	0,24	54730
12	69090	69085	68995	0,077	78893

Tabela 17- Resultados da viscosidade em velocidades crescentes da formulação F3 em triplicata e do branco em cp após ciclo gela-degela

Velocidades(rpm)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	CV(%)	Branco
12	69716	70077	69950	0,26	77451
20	43496	43590	43484	0,13	49981
30	34278	33978	34198	0,45	39755
50	21035	20952	21065	0,28	25145
60	18890	19045	18941	0,41	20861

Através dos resultados foi possível verificar que praticamente não houve mudanças na viscosidade no tempo 0 e após ciclo gela-degela

- Os resultados da condutividade elétrica se encontram na tabela 18 e 19.

Tabela 18- Resultados da condutividade elétrica da formulação F3 em triplicata e do branco no tempo 0

Condutividade elétrica ($\mu\text{S/cm}$)	
Amostra 1	346
Amostra 2	343,6
Amostra 3	349,5
Branco	102,8

Tabela 19- Resultados da condutividade elétrica da formulação F3 em triplicata e do branco após ciclo gela-degela

Condutividade elétrica ($\mu\text{S/cm}$)	
Amostra 1	283,4
Amostra 2	286
Amostra 3	284,8
Branco	89,9

O resultado do teste T-($p>0,05$) sendo $p=95\%$ demonstrou que houve uma alteração na condutividade elétrica das formulações após a realização do ciclo.

- Os resultados para o FPS se encontram na tabela 20 e 21

Tabela 20- Resultados para o FPS da formulação F3 em triplicata e do branco no tempo 0.

FPS	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	DP	CV(%)	Branco
	10,47	10,82	10,85	10,7	0,21	1,97	1,05

Tabela 21- Resultados para o FPS da formulação F3 em triplicata e do branco após ciclo gela-degela

FPS	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	DP	CV(%)	Branco
	10,35	10,60	10,75	10,6	0,2	1,91	0,96

O resultado do teste T-($p < 0,05$) sendo $p = 95\%$ demonstrou que não houve alteração nos valores de FPS das formulações após a realização do ciclo.

Os valores maiores para o FPS neste estudo de estabilidade deve-se ao fato de que o extrato a ser incorporado nas formulações foi recém extraído, visto que, o seu teor de fotoproteção diminui à medida que fica armazenado.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

- O extrato de Pacari obtido das folhas secas trituradas possui absorvência mais intensa na região UVC, porém também absorve nas regiões UVB e UVA;
- O FPS encontrado para a formulação F3, segundo técnica de Mansur, aumentou de 5,37 na formulação só com o filtro químico para 7,3 com a adição do extrato de pacari, representando um aumento de 35%. Segundo a técnica de Refletância Difusa aumentou de 9,07 para 11,11 representando um aumento de 22,5%;
- Os ensaios de DPPH e FRAP confirmaram a atividade antioxidante do extrato de Pacari e também foi confirmada a presença de fenóis e flavonoides através de técnicas de doseamento;
- Nos testes de estabilidade preliminar, a formulação obtida (F3) apresentou-se estável quanto ao FPS, viscosidade e características organolépticos. Porém para os resultados de pH e condutividade elétrica, após o ciclo de gela-degela, foi constatado uma diferença significativa ($p > 0,05$).

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AIKENS P. 2006, Nanomateriais proporcionam proteção solar de amplo espectro. *Cosmet. Toiletries* 18:60-64.

AMER, M.; MAGED, M. Cosmeceuticals versus pharmaceuticals. *Clin. Dermatol.* 2009, v 27(5): 428-430

AMERICAN CANCER SOCIETY. Disponível em: <http://www.cancer.org/research/canceractsstatistics/cancerfactsfigures2010/index> acesso em setembro de 2014.

ANDRADE, J.M.A. Avaliação Metrológica de Filtros Solares por Espectrometria de Massa LDI-TOF. Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado- Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2008.

BARON, E. D.; KIRKLAND, E. B.; DOMINGO, D. S., Advances in photoprotection. *Dermatol. Nurs.* 2008, v. 20, p 265-272.

BOBIN, M.F.; RAYMOND, M.; MARTINI, M.C., Propriedades de absorção UVA/UVB de produtos naturais. *Cosmet. Toiletries* (edição português) 1995, v 7, 44-50.

BONINA, F.; PUGLIA, C.; TOMAIANO, A.; MULINACCI, N.; ROMANI, A.; VINCIERI, F.F. *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effect of tree lyophilized extrats of *Sedum telephium* L. leaves. *J. Pharm Pharmacol.* 2000; v 52(10): 1279- 1285

BRASIL., Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos*. 1. edição. Brasília: ANVISA, 2004. Disponível em < www.anvisa.gov.br>

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista de filtros solares permitidos no Brasil e suas concentrações máximas. Brasília: ANVISA, 2006. Disponível em < www.anvisa.gov.br>

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 67/ 2007. Brasília: ANVISA, 2007. Disponível em < www.anvisa.gov.br>

BRASIL, Farmacopeia Brasileira. *Agencia Nacional de Vigilância Sanitária*. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. v.1 p.87

BRASIL, Farmacopeia Brasileira. *Agencia Nacional de Vigilância Sanitária*. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. v.1 p.236-253.

BRASIL - *MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO-EMBRAPA*. Comunicado Técnico on line 125, Fortaleza, 2006.

BRASIL - *MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO-EMBRAPA*. Comunicado Técnico on line 127, Fortaleza, 2007.

BRASIL, ANVISA, "Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos", Resolução Técnica, RDC nº 30, junho, 2012.

CABRAL, L.D.S.; PEREIRA, S.O.P.; PARTATA, A.K. Filtros solares e fotoprotetores mais utilizados nas formulações no Brasil. *Revista Científica do ITPAC*, Araguaína, v.4, n.3, 2011.

CASTELI, V. C., MENDONÇA, C. C., DE CAMPOS, M. A. L., FERRARI, M. *Desenvolvimento e estudos de estabilidade preliminares de emulsões O/A contendo cetoconazol 2,0%*. *Acta Sci Health Sci* v. 30, p. 121-128, 2008.

CHAIBUB, A. C., Identificação de punicalagina das folhas de *Lafoensia pacari* (Lytraceae) e avaliação das atividades biológicas. Goiânia, 112f. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, 2013

CHIU, A.; KIMBALL, A.B. Topical vitamins, minerals and botanical ingredients as modulators of environmental and chronological skin damage. *British Journal of Dermatology*. 2003, v 149, pages 681-691,

CHRÉTIEN, M. N; HEAFEY, E.; SCAIANO. *Reducing adverse effects from UVB sunscreens by zeolite encapsulation: comparison of oxibenzone in solution and in zeolites*. *Photochem Photobiol*. 2010, v 86(1): 153-161.

CHUN, S.S.; VATEM, D.A.; LIN, Y-T.; SHETTY, K.; Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Massachusetts. Process Biochem*. 2005, v.40, p.809-816

COELHO, F.B.R.; DAL BELO, C.A.; LOLIS, S.F.; SANTOS, M.G. Levantamento etnofarmacológico realizado na comunidade Mumbuca localizada no Jalapão-TO. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 2005, v.2, p.52-55,

COELHO, K. D.; DEUSCHLE, R. A. N.; DEUSCHLE, V. C. K. N. Avaliação da capacidade fotoprotetora *in vitro* em extrato hidroetanólico e formulações de *Calendula officinalis* L. *Revista interdisciplinar de ensino, pesquisa e extensão* v.1 nº1. 2013.

CHORILLI, M.; ZAGUE, V.; SCARPA, M.V.; LEONARDI, G.R.; Influência da viscosidade do veículo na liberação *in vitro* da cafeína, 2007, *Revista Eletrônica de Farmácia*, Araraquara, SP. V.4 p.52-60

DAL'BELO, S. E. *Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extratos de chá verde e Ginkgo biloba*. Ribeirão Preto, 176f. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2008.

DAMIANI, E.; ROSATI, L.; CASTAGNA, R.; CARLONI, P.; GRECI, L., Changes in ultraviolet absorbance and hence in protective efficacy against lipid peroxidation of organic sunscreens after UVA irradiation. *J Photochem Photobiol B: Biology* 2006; 82(3):204-213

DE POLO, K. F. *A short textbook os cosmetology: a short guide to the development, manufacture and sale of modern skin care and skin protection cosmetics*. 1. ed. Verlag Fur Chemishe Industrie, 1998, p. 335-423.

DIFFEY, B. L.; Sunscreens, suntans and skin cancer. People do not apply enough sunscreen for protection. *BMJ*, 1996, 313, 942.

DUTRA, R.C.; LEITE, M.N.; BARBOSA, N.R., Quantification of phenolic constituents and antioxidant activity of *Pterodon emarginatus* Vogel seeds. *Int. J. Mol. Sci.* 2008, 9, 606-614

ELMETS, C. A., SINGH, D.; TUBESING, K.; KATIYAR, S.K.; MUKHTAR, H. Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. *J. Am. Acad Dermatol.* 2001; v 44(3):425-432.

FACHIM, E.; GUARIM, V.L.M.S. Conservação da biodiversidade: espécies da flora de Mato Grosso. *Acta Botânica Brasileira*, v.9, n.2, p.281-287, 1995.

FERRARI, M. Desenvolvimento e avaliação da eficácia fotoprotetora de emulsões múltiplas contendo metoxicinamato de etilexila e óleo de andiroba (*Carapa guyanensis*). Ribeirão Preto, 142f. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2002.

FERRARI, M.; OLIVEIRA, M. S.; NAKANO, A. K.; ROCHA-FILHO, P. A. Determinação do fator de proteção solar (FPS) in vitro e in viro de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 4, p. 626-630, 2007.

FACHIM, E.; GUARIM, V.L.M.S. Conservação da biodiversidade: espécies da flora de Mato Grosso. *Acta Botanica Brasilica*, v.9, n.2, p.281-302, 1995.

FISHER, G. J.; KANG, S.; VARANI, J.; BATA-CSORGO, Z.; DATTA, S; VOORHEES, J. J. *Mechanisms of photoaging and chronological skin aging*. *Arch Dermatol*, 2002, 138 (11): 1462-14700.

FITZPATRICK, T. B.; PATHAK, M. P. *Protection of human against the effects of sunburn ultraviolet (290-320nm)*. In: Sunlight and man, normal and abnormal photobiological responses. Fitzpatrick T.B. & al.(eds.). University of Tokio Press, Tokio, p. 751-1974.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A., Protetores solares. *Quim. Nova.* v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.

F'GUYER, S.; AFAQ, F.; MUKHTAR, H.; Photochemoprevention of skin cancer by botanicals agents. *Photodermol Photoimmunol Photomed.* 2003; 19(2): p. 56-72.

FORTE, A.L.S.A., Avaliação do potencial fotoquimiotetor do extrato de *Protium heptaphyllum* da Amazônia em gel de aplicação tópica. Ribeirão Preto, 87f. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2012

GALDINO, P.M.; NASCIMENTO, M.V.; SAMPAIO, B.L.; FERREIRA, R.N.; PAULA, J.R.; COSTA, E.A. Antidepressant-like effect of *Lafoensia pacari* A. St.- Hill. Ethanolic extract and fractions in mice. *Journal of Ethnofarmacology*, v. 124, p. 581-585, 2009

GARCIA, B. H.; KRAUSS, L. A.; SARTOR, C. F. P.; FELIPE, D. F. *Estudo da atividade antioxidante dos extratos de própolis e Pereskia aculeata*, *Anais eletrônicos. CESUMAR, Maringá-Pr, 2011*

GINESTAR, J., Pigments as photoprotectants. *Cosmet. Toiletries.* v. 118, n. 2 p73-78, 2003. Goiânia. *Anais.* São José dos Campos: Inpe, 2005, p.3309-3316.

GONZÁLEZ S, FERNÁNDEZ-LORENTE, M, GILABERTE-CALZADA Y. The latest on skin photoprotection. *Clin Dermatol.* 2008;v 26 p. 614-26.

GOOSSENS, A.; LEPOITTEVIN, J. P. 2003. *Allergie de contact aux cosmétiques et aux composants de parfums: aspects cliniques, chimiques et diagnostiques nouveaux.* *Revue Française D' allergologie et D' immunologie.*

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

GUIMARÃES, H.; NASCIMENTO, M.V.M.; TAVARES, A.; GALDINO, P.M.; PAULA, J.R.; COSTA, E.A. Effects of ethanolic extract of leaves of *Lafoensia pacari* A. St.- Hill., Lytraceae (pacari), in pain and inflammation models. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, p. 328-333, 2010.

HASLAM, E. Natural Polyphenols(Vegetable Tannins) as Drug: Possible Modes of Action. *Journal of Natural Products*. Cincinnati, v.59, p.205-215, 1996.

INCA, 2014. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. Acesso em setembro 2014.

JANSEN, J.; WANG, S. Q.; BURNETT, M.; OSTERWALDER, U.; LIM, H. W. *Photoprotection: Part II. Sunscreen: Development, efficacy, and controversies* *Journal of the American Academy of Dermatology*, v.69, n.6, 2013, p.867.e1- 867.e14.

JESUS, N.Z.T.; LIMA, J.C.S.; SILVA, R.M.; ESPINOSA, M.M.; MARTINS, D.T.O. levantamento etnobotânico de plantas popularmente utilizadas como antiúlcera e antiinflamatórias pela comunidade de Pirizal, Nossa Senhora do Livramento-MT, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19,p.130-139, 2009.

JOLY, A. B. *Introdução à taxonomia vegetal*. 13. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002, p. 599.

JUCHEM, P. P.; HOCHBERG, J.; WINOGRON, A.; ARDENGHY, M.; ENGLISH, R., Riscos à saúde da Radiação Ultravioleta. *Rev. Bra. Cir. Plast.* 1998; 13(2): 47-60.

JULKUNEN-TIITO, R., Phenolic constituents in the leaves of northern willows, methods for the analysis of certain phenolics. *J.Agric. Food Chem.*1985, 33,213-217

KALE, S.; GHOGE, P.; ANSARI, A.; WAJE, A.; SONAWANE, A., Formulation and *in vitro* determination of Sun Protection Factor of *Nigella sativa* Linn. Seed Oil Sunscreen Cream. *International Journal of PharmaTech Research* 2010, v. 2, n.4, p 2194-2197.

KATIYAR, S.K. Skin Photoprotection by Green Tea: Antioxidant and Immunomodulatory Effects. *Current Drug Targets*. 2003; 3(3): 234-242

KIM, S.J. Effect of biflavones of *Ginkgo biloba* against UVB-induced cytotoxicity *in vitro*. *J. Dermatol.* 2001; v 30, p.193-199.

KIRCHHOFF, V. W. J. H. *Ozônio e radiação UVB*. São José dos Campos: Transtec Editorial, 1995, p. 66.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. *A Conservação do Cerrado brasileiro*. Brasília, Megadiversidade, v. 1 n.1, 2005, p.148.

KORN, M.; BORGES, S. S. Procedimentos analíticos assistidos por ultrassom. *Lancet*. 2007, v 370, p 528-537

LAUTENSCHLAGER, S.; WULF, H.C.; PITTELKOW, M.R.; Photoprotection. *Lancet*, 2007 Aug. 11; v 370(9586), p. 528-537

LOWE, N. J.; SHAATH, N. A.; PHATAK, M. A. *Sunscreens development, evaluation and regulatory aspects*. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1997, p. 792.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. Ultrasound: a powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 22, 2003, p. 41-47.

MAIA, A., Titânio. Disponível em www.dnpm.gov.br/dnpm_legis/suma2000/TITANIO.doc. Departamento Nacional de Produção Mineral. Acesso em 2014.

MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. A.; AZULAY, R. D.; *Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria*. An. Bras. Dermatol. 1986, 61: 121-124.

MANSUR, M. C. P. P. R. Estudo preliminar das atividades fotoprotetora e antioxidante dos extratos das folhas de *Bauhinia microstachya* var. *massambabensis*. Vaz numa formulação antissolar. Dissertação de Mestrado 145f. Rio de Janeiro: UFRJ, 2011.

MARINOVA, E.M.; YANISHLIEVA, N., Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. *Food Chem*. 1997, v 58, p. 245-248

MARTINS, Perla Garcia. *A Radiação Ultravioleta e o Organismo Humano*. Disponível em: http://www.ck.com.br/materias/2001_09_arquivos/0901.htm. Acesso: 01/10/14.

MASSON, D. S.; MORAIS, G. G.; MORAIS, J. M.; ANDRADE, F. F.; SANTOS, O. D. H.; OLIVEIRA, W. P.; ROCHA FILHO, P. A. *Polyhydroxy alcohols and peach oil addition influence on liquid crystal formation and rheological behavior of O/W emulsions*. Ribeirão Preto: J Dispers Sci Technol, 2005; v 26(4): p. 463-468.

MATHEUS, L. G. M.; KUREBAYASHI, A. K. *Fotoproteção: a radiação ultravioleta e sua influência na pele e nos cabelos*. São Paulo: Tecnopress, 2002.

MEIRA, R. M. S. A. *Anatomia foliar e estudos morfológicos em espécies de Lafoensia vand. (Lythraceae) nativas do Brasil*. 2000, 257f. Tese de Doutorado em Biologia Vegetal- Instituto de Ciências Biológicas. Campinas-SP: Universidade Estadual de Campinas, 2000.

MOLE, S. A.; WATERMAN, P. G. *A critical analysis techniques for measuring tannins in ecological studies*, *Oecologia*. Abril 1987, volume 72, n.1, p. 137-147.

MONTEIRO, E.O., Filtros solares e fotoproteção. Disponível em <http://www.moreirajr.com.br>

MULLER, V.; CHÁVEZ, J.H.; REGINATTO, F.H.; ZUCOLOTTI, S.M.; NIERO, R.; NAVARRO, D.; YUNES, R. A.; SCHENKEL, E.P.; BARARDI, C.R.M.; ZAETTI, C.R.; SIMÕES, C.M.O. Evaluation of antiviral activity of South American plant extracts against herpes simplex virus type 1 and rabies virus. *Phytotherapy Research*, v. 21, p. 970-974, 2007.

MUNDO, S. R.; DUARTE, M. R. Morfoanatomia foliar e caulinar de dedaleiro: *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, p. 522-529, 2007.

MUNDSTOK, M. H; FRASSON, A. P. Z. Avaliação da Estabilidade Físico-Química de Bloqueadores Solares FPS 30. *Revista Contexto & Saúde*, v. 5 p. 57-66, 2005.

NACZK, M.; SHAHIDI, F., Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatogr. A*, 2004, 1054, 95-111

NASCIMENTO, C.S.; NUNES, L.C.C.; LIMA, A.A.N.; JUNIOR, G. S.; NETO, P.J.R., Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha. *Rev. Bras. Farm.*, 2009, v 90(4) p. 334-339,

NASCIMENTO, M.V.M.; GALDINO, P.M.; FLORENTINO, I.F.; SAMPAIO, B.L.; VANDERLINE, F.A.; PAULA, J.R.; COSTA, E.A. Antinociceptive effect of *Lafoensia pacari* A.St.- Hill. Independent of antiinflammatory activity of ellagic acid. *Journal of Natural Medicines*, v. 65, p. 448-454, 2011.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Metabolismo do DNA*. In: Lehninger AL. *Princípios de Bioquímica* do Lehninger. São Paulo: Sarvier, 2006. p. 940-984.

OLIVEIRA, L. A. R.; Isolamento, quantificação e avaliação das atividades leishmanicida e tripanocida de furanoditerpenos do oleoresina de *Pterodon spp.* Vogel (Fabaceae). Goiânia, 119f. Dissertação de Mestrado- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, 2014.

OLIVEIRA, K. A. M.; OLIVEIRA, G. V.; BATALINI, C.; ROSALEM, A.; RIBEIRO, L. S. *Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fenóis totais em diferentes extratos de Própolis*. 2012, v. 33 n. 2, p. 211.

OLIVEIRA-JUNIOR, R. G.; ARAUJO, C. S.; SANTANA, C. R. R.; SOUZA, G. R.; LIMA-SARAIVA, S. R. G.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; SIQUEIRA-FILHO, J. A.; PACHECO, A. G. M.; ALMEIDA, J. R. G. S. *Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activity of extracts from the flowers of Neoglaziovia variegata (Bromeliaceae)*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, v. 4, n. 10, p.4489-4494, 2012a.

OSTERWALDER, U.; LUTHER, H.; B.; *Novo Protetor UVA, Cosmet. Toil.* (edição português), 2000, v 12, p. 52-59.

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

PATHAK, M. A. *Photoprotection against harmful effects of solar UVB and UVA radiation: an update*. In: Lowe NJ, Shaath NA, Pathak MA. *Sunscreens: development, evaluation and regulatory aspects*. New York: Marcel Dekker; 1997, p. 59-79.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, JAMES.R. *Introdução à Espectroscopia* 4ª ED. 2010

PINTO, J.E.S.; MICKOS, T.B.; SILVA, K.F.; SARTO, C.F.P.; FELIPE, D.F., *Estudo da atividade fotoprotetora de diferentes extratos vegetais e desenvolvimento de formulação de filtro solar*. *Anais eletrônicos, UNICESUMAR, Centro Universitário Cesumar*. Maringá, 2013

POLONINI, H. C.; RAPOSO, N. R. B.; BRANDÃO, M. A. F. *Fotoprotetores naturais como instrumento de ação primária na prevenção de câncer de pele*. *Revista APS*, v. 14, n. 2, p. 216-223, 2011.

PROSERPIO, G. *Natural sunscreens: vegetables derivatives as sunscreens and tanning agents*. *Cosm.Toil*, 1976, 91: 34-46.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F., *Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

RABELO, D.S.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Quantificação de fenóis totais presentes nas cascas de *Trichillia catigua* A. Juss (Meliaceae). Rev. Bras. Pl. Med., v.15, p.230-236, 2013.

RAI, R.; SRINIVAS C.R.; Photoprotection. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2007; 73:73-9.

RANGEL, V.L.B.I.; CORRÊA M.A 2002. Fotoproteção. *Cosmet Toil (edição em português) 14*: 88-95.

RAMOS, M.F.S.; SANTOS, E.P., BLZARRI, C.H.B., MATTOS, H.A. Preliminary studies towards utilization of various plant extracts as antisolar agents. Int J Cosmet Sci.1996; v 18(3) p.87-101.

RANCAN, F.; BOEHM, K.; FERNADEZ, E.; HIDALGO, M. E.; QUIHOT, W.; RUBIO, C.; BOEHM, F.; PIAZENA, H.; OLTMANN, U. *Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens*. J.Photochem Photobiol B: Biology, 2002, v. 68: 133-139.

RIBEIRO, A. M.; KHURY, E.; GOTTARDI, D. Validação de testes de estabilidade para produtos cosméticos. In: CONGRESSO NACIONAL DE COSMETOLOGIA, 10, São Paulo, 1996. *Anais*. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, 1996. p. 349-375.

RIBEIRO, C. J. *Cosmetologia aplicada a dermocosmética*. 1. ed. 2006.

RIBEIRO, J.; DIAS, T., Parte 1: Fatores Bióticos, Vegetação e Flora. In: BRASIL *Cerrado e Pantanal: Áreas e ações prioritárias para conservação da biodiversidade*. 2. ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2007, p. 21-138.

ROGÉRIO, A.P.; FONTANARI, C.; BORDUCCHI, E.; KELLER,A.C.; RUSSO, M.; SOARES, E.G.; ALBUQUERQUE, D.A.; FACCIOLI, L.H. Antiinflammatory effects of *Lafoensia pacari* and ellagic acid in murine modelo f asma. European Journal of Pharmacology, v. 580, p.262-270, 2008.

ROLIM, A.; MACIEL, C. P. M.; KANEKO, T. M.; CONSIGLIERI, V. O.; SALGADO-SANTOS, I. M. N.; VELASCO, M. V. R. Validation assay for total flavonoids, as rutin equivalents, from *Trichillia catigua* Adr.Juss (Meliaceae) and *Ptychopetalum olacoides* Bentham (Olacacea) commercial extract. *J.AOAC* v.88, p. 1015-1019, 2005.

ROSS, J.A., KASUM, C.M., Dietary Flavonoids: bioavailability, metabolic effects and safety. Annual Review of Nutrition., v.22,p.19-34, 2002.

ROY, C.; GIES, H. P.; TOMMEY, S. Climatology of UVB and zone variations & the global solar UV index. *J. Photochem.Photobiol*, 1995, v 31 p.21.

RUVOLO JUNIOR, E. C. Fator de Proteção Solar-Comparação de Métodos de Determinação por Testes em Humanos (*in vivo*) (FDA,COLIPA e SAA). *Cosméticos On Line*, 1997, 19, 37.

SAMPAIO, B.L.; BARA, M.T.F.; FERRI, P.H.; SANTOS, S.C.; PAULA, J.R. Influence of environmental factors on the concentration of phenolic compounds in leaves of *Lafoensia pacari*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, p. 1127- 1137, 2011.

SANO, E. E.; FERREIRA, L. G. Monitoramento semidetalhado (escala de 1:250.000) de ocupação de solos do Cerrado: considerações e proposta metodológica. In: *SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO*, 12, 2005.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G. *Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado*. *Pesq.agropec. bras.*, Brasília, v. 43, n.1, p.153-156, 2008.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. *Cerrado:ecologia e flora*. *Embrapa Cerrados*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008, 1279 p. 2v.

SANTANA, C. R. R.; OLIVEIRA-JUNIOR, R. G.; ARAUJO, C. S.; SOUZA, G. R.; LIMA-SARAIVA, S. R. G.; GUIMARÃES, A. L.; OLIVEIRA, A. P.; SIQUEIRA-FILHO, J. A.; PACHECO, A. G. M.; ALMEIDA, J. R. G. S. Phytochemical screening, antioxidante and antibacterial activity of *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae). *International Journal of Sciences*, v.1, n.11, p. 1-19, 2012.

SANTOS, O. D. H.; MIOTTO, J. V.; MORAIS, J. M.; ROCHA FILHO, P. A. *Attainment of emulsions with liquid crystal from marigold oil using the required HLB method*. *Journal of Dispersion Science and Technology*. v. 26, p. 243-249, 2005.

SAYRE, R.M.; STANFIELD, J.; BUSH, A.J.; LOTT, D.L.; Sunscreen standards tested with differently filtered solar simulators. *Photodermol Photoimmunol Photomed*. 2008; 17(6): 278-283

SCHAUDER, S.; IPPEN, H. *Contact and photocontact sensitivity to sunscreens*. *Contact Dermatitis* 37: 221-232. 1997.

SGARBI, F. C.; CARMO, E. D.; ROSA, L. E. B., Radiação ultravioleta e carcinogênese. *Rev.Cienc. Med*. 2007, 16:245-250.

SHIKI, S. *Sistema agroalimentar no Cerrado brasileiro: caminhando para o caos?* In: SILVA, J. G.; SHIKI, S.; ORTEGA, A. C. (Orgs). Agricultura, meio ambiente e sustentabilidade do Cerrado brasileiro. Uberlândia, 1997. 372.

SILVA, I. D. D.; ARAGÃO, C. F. S. Avaliação de parâmetros de extração de *Chinchona Vahl* por métodos farmacopéicos e não farmacopéicos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, p.776-780, 2009.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como anti-oxidantes Rev. Nutr. 2002 ,v 15(1) p.71-81

SÓLON, S.; LOPES, L.; SOUSA Jr., P. T.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Free radical scavenging activity of *Lafoensia pacari*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.72, p. 173-178, 2000.

SOUZA, F.P.; CAMPOS, G.R.; PACKER, J.F., Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. – Acerola Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2013; v 34(1) p. 69-77.

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, p. 36-38, 2005.

STEINER, D. *Cosmet. Toil.* (edição português), 1995, 10, 29.

STREILEIN, J. W.; TAYLOR, J. R.; VINCEK, V.; KURIMOTO, I.; SHIMIZU, T.; TIÉ, C.; GOLOMB, C. Immune surveillance and sunlight-induced skin cancer. *Immunol. Today*, 1994, 15, 174.

SUCUPIRA, N.R.; SILVA, A.B.; PEREIRA, G.; COSTA, J.N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde 2012;14(4):263-9.

SVOBODOVA, A.; WALTEROVA, D.; VOSTALOVA, J. Ultraviolet light induced alteration to the skin. *Biofilmes. Pap Med. Fac. Univ.Palacky Olomuc Czech Repub.* 2006, v. 150, p. 25-38.

TAMASHIRO FILHO, P.; OLAITAN, B.S.; ALMEIDA, D.A.T.; LIMA, J.C.S.; MARSON-ASCÊNCIO, P.G.; ASCÊNCIO, S.D.; RIOS-SANTOS, F.; MARTINS, D.T.O. Evaluation of antiulcer activity and mechanism of action of methanol stem bark extract of *Lafoensia pacari* A.St.- Hill.(Lytraceae) in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 144, p. 497-505, 2012.

TAYLOR, C. R.; STERN, S.; LEYDEN, J. J.; GILCHREST, B. A., Photoaging/ photodamage and photoprotection. *J. Am.Acad. Dermatol.*1990, 22, The latest on skin photoprotection, *Clin. Dermatol.* 2008, v. 26, p. 614-626.

TONELLO, V.M. Estrutura de populações de *Lafoensia pacari* St. Hil. e dados etnobotânicos e fenológicos em Nossa Senhora do Livramento, Mato Grosso. 1997. 94p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação da Biodiversidade) - Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá.

VALFRÉ, H. Fitocosmética. *Cosmet. Toil* (edição português), 1990, v 29 p.14.

VELASCO DE PAOLA, M. R. V.; RIBEIRO, M. E. *Cosmet.Toiletriesl.* (edição português) 1988, 10, 41.

VELASCO DE PAOLA, MVR, 2001. Princípios de formulação de protetores solares. *Cosmet.Toiletries.* v 13 p. 74-82.

VELASCO DE PAOLA, M.V.R.; BALOGH,T.S.; PEDRIALI,C.A.; PINTO, C.A.S.O., KANEKO, T.M.; BABY, A.R. Associação da rotina com *p*- metoxicinamato de octila e benzofenona-3: avaliação *in vitro* da eficácia fotoprotetora por espectrofotometria de refletância. *Lat Am J Pharm.* 2008; v 27(1) p.23-7.

VILA VERDE, G.M.; PAULA, J.R.; CARNEIRO,D.M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado pela população de Mossâmedes (GO). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.13, p. 64-66, 2003

VIOLANTE, M. P.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F. R.; SANTOS, R. A. N.; FERRARI, M. Avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. *Revista Brasileira de Farmacologia*, 19(2A): 52-457, 2009.

WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant Drug Analysis: A thin Sayer chromatography Atlas.* Ed Spinger. 2. Edição (2001).

WILKINSON, J. B., MOORE, R. J. *Cosmetologia de Harry.* Madrid: Díaz de Santos; 1990, p. 249-283.

WLASCHEK, M.; TANTCHEVA-POOR, I.; NADERI, L.; M. A. W.; SCHNEIDER, L. A; RAZI-WOLF,Z.; SCHULLER, J.; SCHARFFETTER-KOCHANEK, K. Solar UV irradiation and dermal photoaging. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2001, v.63 p. 41-51.

WOLF, R.; WOLF, D.; MORGANTI, P.; RUOCCO, V. Sunscreens. *Clin. Dermatol.* v. 19, p. 452-459, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. Fact sheer nº 261: Protecting children from. ultraviolet. Genebra: World Health Organization; 2001.

ZUANAZZI, J.A.S., MONTANHA, J.A. 2007. Flavonóides. In SIMÕES, C.M.O. (org.) *Farmacognosia da planta ao medicamento* 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, p. 577-614.

ANEXOS

ANEXO A- Laudo do Distribuidor Pharma Nostra para o Eusolex 2292®



Pharma Nostra®

CERTIFICADO DE ANÁLISE

INSUMO:	EUSOLEX 2292 (MERCK) +		Pág 1
ORIGEM/PROCEDENCIA:	ALEMANHA/BRASIL	DATA DE ANÁLISE:	07/08/2013
LOTE PHARMA NÓSTRA:	13072870A	LOTE FABRICANTE:	K93395882
DATA DE FABRICAÇÃO:	Fevereiro/2013	DATA DE VALIDADE:	Fevereiro/2016
DCB:	06563	CAS:	5466-77-3
CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM:	TEMPERATURA AMBIENTE		
OBS 1:	FM: C ₁₀ H ₁₆ O ₂		
OBS 2:	PM: 290,4		
DATA DE EMISSÃO:	19/08/2013	NF:	6-016.331
		ORDEM FRACIONAMENTO:	4543-13
TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS	REFERÊNCIAS
Identificação:	IV - O espectro da amostra está de acordo com o do padrão UV	Conforme	USP - 36
Índice de Acidez	≤ 0,9	Conforme	
Densidade relativa*	1,005 - 1,013 g/mL	0,05	USP - 36
Função Cromatográfica	Conforme	1,010 g/mL	USP - 36
Índice de Refração	1,542 - 1,548	Conforme	USP - 36
Tecor	≥ 95,0	1,546	USP - 36
		99,8%	USP - 36
TESTES ADICIONAIS			
Descrição*	Líquido límpido incolor a amarelo claro, praticamente inodoro	Líquido límpido incolor, praticamente inodoro	Fabricante
Umidade	≤ 0,5%	< 0,01%	Fabricante
Absorbância específica	≥ 830 (em 308 nm; 1%; em metanol)	0,71	Fabricante

*Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade Pharma Nostra (UNIDADE ANAPÓLIS). E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.
 LEGENDA DAS REFERÊNCIAS: FB (Farmacopeia Brasileira) / USP (United States Pharmacopoeia) / EP (European Pharmacopoeia) / BP (British Pharmacopoeia) / JP (Japanese Pharmacopoeia) / MG (Método Geral farmacopeia) / Fabricante (especificação e metodologia conforme o fabricante do insumo) / Informativo (resultado fornecido como informativo pelo LCO SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA).

CONCLUSÃO: (X) Aprovado () Reprovado


 Responsável pelo Lab. Controle de Qualidade
 João Paulo Sampaio Mendes - CRF - GO 7395


 Responsável Técnico
 Rodrigo Molinari Elias - CRF - GO nº 3234

ANEXO B- Laudo do Distribuidor Pharma Nostra para o Focus Gel 305®



Pharma Nostra®

CERTIFICADO DE ANÁLISE

INSUMO:	FOCUS GEL 305		Pág 1
ORIGEM/PROCEDENCIA:	FRANÇA/BRASIL	DATA DE ANÁLISE:	03/07/2013
LOTE PHARMA NOSTRA:	13051729B	LOTE FABRICANTE:	A15/1595
DATA DE FABRICAÇÃO:	Julho/2012	DATA DE VALIDADE:	Janeiro/2015
CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM:	TEMPERATURA AMBIENTE		
DATA DE EMISSÃO:	19/08/2013	NF:	6-016.331
		ORDEM FRACIONAMENTO:	3734-13
TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS	REFERÊNCIAS
Descrição*	Líquido viscoso incolor opaco	Líquido viscoso incolor opaco	Fabricante
pH*	4,0 - 5,5 (Solução 1% em água)	4,5	Fabricante
Viscosidade bulk	1500 - 5500 cps	1920	Fabricante
Acetilamida residual	0 - 5 ppm	0,5 ppm	Fabricante
Viscosidade a 2% de pasta branca	18.000 - 32.000 cps	27.500 cps	Fabricante
TESTES ADICIONAIS			
Densidade relativa*	Informativo	1,108 g/mL	Mét. Geral FB V

*Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade Pharma Nostra (UNIDADE ANÁPOLIS). E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.

INCI: Polyacrylamide & C13-14 Isoparaffin & Laureth - 7

LEGENDA DAS REFERÊNCIAS: FB (Farmacopéia Brasileira) / USP (United States Pharmacopoeia) / EP (European Pharmacopoeia) / BP (British Pharmacopoeia) / JP (Japanese Pharmacopoeia) / MG (Método Geral farmacopoeia) / Fabricante (especificação e metodologia conforme o fabricante do insumo) / Informativo (resultado fornecido como informativo pelo LCO SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA)

CONCLUSÃO: Aprovado Retirado

Responsável pelo Lab. Controle de Qualidade
João Paulo Santos Mendes - CRF-GO: 7055

Responsável Técnico
Rodrigo Molinari Elias - CRF-GO Nº 3234

ANEXO C- Laudo do Distribuidor Gemini para o Nipagin®

CERTIFICADO DE ANALISE

PRODOTO.: NIPAGIN
 FABRIC.: 25/05/12 PROCED.: BRASIL
 VALIDADE.: 25/05/15 ORIGEM.: CHINA
 LOTE FAB/INTERNO.: M120525

EMISSAO.: 04/12/12
 N.FISCAL.: 017100

NOME DO PRODUTO: METILPARABENO/ NIPAGIN
 FORMULA MOLECULAR: C8H8O3
 PESO MOLECULAR: 152.15
 CAT. TERAPEUTICA: CONSERVANTE
 D.C.B.T: 05809
 CAS.: 99-76-3
 FABRICANTE: TAIZHOU HUERCHONG PINE CHEMICAL

BOLETIM DE ANALISE: 1863/12

No. G.F: 2.490/12

TESTES	ESPECIFICACOES	RESULTADOS
ASPECTO FISICO:	PO BRANCO AMARELO	DE ACORDO
SOLUBILIDADE:	MUITO BOMAMENTE SOLUVEL EM AGUA LIVEMENTE SOLUVEL EM ETANOL E METANO	DE ACORDO
APARENCIA DA SOLUCAO:	CLARA	DE ACORDO
IDENTIFICACAO:	IP	DE ACORDO
PONTO DE FUSAO:	126,0 A 128,0C	126,0 - 127,10C
*ACIDES:	MAX. 0,10MG/G	< 0,1MG/G
*PERDA POR SECAGEM:	MAX. 0,5%	0,36%
*CINZAS SULFATADAS	MAX. 0,1%	0,05%
*RESIDUO:	MAX. 0,1%	0,03%
*METAIS PESADOS:	MAX. 10PPM	< 10PPM
*SUBST. RELATADAS:	CUMPRE O TESTE	DE ACORDO
DOSEAMENTO:	99,08 A 101,0%	99,66%
**IMP. ORGANICAS VOLATEIS:	CUMPRE TESTE	DE ACORDO

URS.: RESULTADOS DE ACORDO COM AS ANALISE REALIZADAS NO LQ GENIX (BP2010/DESENVOL. LOCAL).

+ TESTES ADICIONAL REALIZADO DE ACORDO COM ORIENTACAO DO FABRICANTE (BP2007/USF31).

* RESULTADOS TRANSCRITOS DO LAUDO DE ANALISE DO FABRICANTE.

DISPOSICAO: APROVADO

DRA. HELOISA S. CONSTANTINO
 FARM. RESP. CRF-03 7690

SERVICO DE ATENDIMENTO GEMINI: sac@geminifarmaceutics.ind.br 08007715808

ANEXO C- Laudo do Distribuidor All Chemistry para o EDTA Dissódico

FABRICAÇÃO DE APOIO À PESQUISA		Nº de Análise: 49755-1 em 23/01/2013							
EDTA Dissódico									
Fabricação	Validade	Lote	Procedência	Origem	Fórmula	P. Mol.	DCB	CAS	
07/12/2011	07/12/2015	ALL 49755	NACIONAL	CHINA	$C_{10}H_{14}N_2O_8 \cdot 2H_2O$	372,24	00173	8361-92-6	
Ensai	Especificação		Resultado	Referência	Laboratório				
APARENCIA	Pó cristalino Branco, livre de materiais estranhos.		De acordo	MA 20598	All Chemistry				
CLQUETOS	Máximo de 0,05%.		< 0,05%	MA 20598	All Chemistry				
FERRO	Máximo de 0,001%.		< 0,001%	MA 20598	All Chemistry				
METAIS PESADOS	Máximo de 0,001%.		< 0,001%	MA 20598	All Chemistry				
pH (SOLUÇÃO 1%)	Entre 4 e 5.		4,7	MA 20598	All Chemistry				
SULFATOS	Máximo de 0,1%.		< 0,1%	MA 20598	All Chemistry				
TEOR	Mínimo de 99%.		99,74%	MA 20598	All Chemistry				
VALOR QUELATO	Entre 280 e 290.		288	Fabricante	Fabricante				

Fabricante: Changzhou
Lote do Fabricante: 20111207

Informações sobre armazenamento:
Manter protegido da luz.
Manter em recipiente fechado.
Manter em temperatura ambiente.

Certificado de Qualidade All Chemistry Número ALL 49755-1 em 23/01/2013
Fracionamento: 49755-1

APÊNDICES

Apêndice A. Absorbâncias do padrão do ácido tânico para o cálculo de Fenóis Totais do extrato obtido por ultrassom

Concentração mg/mL	ABS 1	ABS 2	ABS 3	Média
0,2	0,369	0,36	0,379	0,369
0,25	0,502	0,493	0,496	0,497
0,3	0,633	0,638	0,634	0,635
0,35	0,78	0,792	0,781	0,784
0,4	0,895	0,942	0,886	0,908

Apêndice B. Absorbâncias da amostra do ext. de pacari para Fenóis Totais

	ABS1	ABS2	ABS3	Média	Concentração mg/mL
Amostra + Solução 4mL	0,72	0,717	0,735	0,724	0,331

Apêndice C. Absorbâncias da curva padrão de rutina para Flavonoides Totais.

Concentração (mg/mL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	Média
0,005	0,244	0,247	0,251	0,2473
0,01	0,457	0,482	0,493	0,4773
0,02	0,941	0,963	0,968	0,9573
0,03	1,458	1,492	1,486	1,4787
0,04	2,221	2,221	2,221	2,2210

Apêndice D. Absorbâncias da amostra do ext. de Pacari para Flavonoides Totais

	ABS 1	ABS 2	ABS 3	Média	Concentração (mg/mL)
Amostra +solução qsp 2mL	0,783	0,789	0,787	0,786	0,03

Apêndice E. Absorbâncias do extrato de Pacari para teste de DPPH

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	Média	DP	CV
20	0,580	0,570	0,581	0,577	0,0061	1,0592
40	0,447	0,465	0,448	0,453	0,0101	2,2315
60	0,340	0,358	0,322	0,340	0,0180	5,2941
80	0,275	0,288	0,296	0,286	0,0106	3,7015
100	0,144	0,147	0,154	0,148	0,0041	3,4595

Apêndice F. Absorbâncias para construção da curva-padrão do sulfato ferroso

Concentração (μM)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Média	DP	CV
500	0,294	0,291	0,297	0,294	0,003	1,02
1000	0,661	0,664	0,665	0,663	0,002	0,31
1500	0,981	0,979	0,983	0,981	0,002	0,20
2000	1,301	1,298	1,304	1,301	0,003	0,23

Apêndice G. Absorbâncias do extrato de Pacari para o teste de FRAP

Concentração(μM)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Média	DP	CV
20	0,221	0,219	0,217	0,219	0,002	0,913
30	0,418	0,422	0,42	0,420	0,002	0,476
40	0,62	0,623	0,619	0,621	0,002	0,335
50	0,906	0,91	0,905	0,907	0,003	0,292

Apêndice H. Leituras das viscosidades das amostras de gel-creme

Velocidade (rpm)	Leitura 1(cp)	Leitura 2(cp)	Leitura 3(cp)	Média	CV (%)
60	28384	29558	28518	28518	2,25
50	33044	33760	32992	33265	1,29
30	49020	48992	48972	48994	0,05
20	65642	64803	63406	64617	1,74
12	94975	93494	94971	94480	0,9

Apêndice I. Leituras das viscosidades das amostras de F1

Velocidade (rpm)	Leitura1(cp)	Leitura 2(cp)	Leitura 3(cp)	Média	CV(%)
60	30792	30567	30863	30741	0,50
50	36648	36515	36356	36506	0,40
30	53890	53301	53426	53539	0,43
20	75280	75101	74936	75106	0,23
12	114496	113293	113150	113646	0,65

Apêndice J. Leituras das viscosidades das amostras de F2

Velocidade (rpm)	Leitura 1(cp)	Leitura 2(cp)	Leitura 3(cp)	Média	CV (%)
60	26345	26744	25380	26156	2,68
50	30125	29744	28890	29586	2,13
30	44754	44604	43606	44321	1,40
20	59622	58416	57218	58419	2,05
12	89327	88517	87997	88614	0,75

Apêndice K. Leituras das viscosidades das amostras de F3

Velocidade (rpm)	Leitura 1(cp)	Leitura 2(cp)	Leitura 3(cp)	Média	CV (%)
60	28214	27114	27145	27491	2,27
50	31274	30640	31083	30999	1,05
30	48496	48558	48302	48452	0,27
20	67317	67020	68320	67554	1,00
12	101994	102290	101129	10804	0,6