

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÍNTIA ELENA LEITE ZINI

**ESTUDO DE EXTRATOS VEGETAIS COM ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E FILTRANTE DOS RAIOS ULTRAVIOLETA COMO
ADJUVANTES DE FILTRO QUÍMICO ORGÂNICO EM
FOTOPROTETORES. DETERMINAÇÃO DO FPS *IN VITRO*.**

JUIZ DE FORA

2012

CÍNTIA ELENA LEITE ZINI

**ESTUDO DE EXTRATOS VEGETAIS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
FILTRANTE DOS RAIOS ULTRAVIOLETA COMO ADJUVANTES DE FILTRO
QUÍMICO ORGÂNICO EM FOTOPROTETORES. DETERMINAÇÃO DO FPS *IN
VITRO*.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. José de J. R. G. de Pinho

JUIZ DE FORA

2012

Zini, Cíntia Elena Leite.

Estudo de extratos vegetais com atividade antioxidante e filtrante dos raios ultravioleta como adjuvantes de filtro químico orgânico em fotoprotetores. Determinação do FPS *in vitro* / Cíntia Elena Leite Zini. – 2012.

78 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

1. Radiação UV. 2. Filtros solares. 3. Extratos vegetais. 4. FPS *in vitro*. 5. Antioxidantes. I. Título.

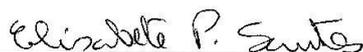
Estudo de extratos vegetais com atividade antioxidante e filtrante dos raios ultravioleta como adjuvantes de filtro químico orgânico em fotoprotetores. Determinação do FPS *in vitro*.

Cíntia Elena Leite Zini

ORIENTADOR: Prof. Dr. José de Jesus R. G. de Pinho

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 05/07/2012



Profa. Dra. Elisabete Pereira dos Santos



Profa. Dra. Mirian Pereira Rodarte



Prof. Dr. José de Jesus Ribeiro Gomes de Pinho

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação a meus pais, Eduil e Maria Lúcia, que desde a infância incentivaram em mim o gosto pelo estudo. Hoje vocês podem constatar que todo o esforço valeu a pena. Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus, presença constante e inspiradora. Obrigada por ter-me dado saúde, proteção e força para concluir esse projeto.

Ao Fabrício, pelo apoio incondicional, pelas palavras de incentivo e enorme torcida. Obrigada por compreender os momentos de ausência.

À minha família, fonte de energia.

Ao meu orientador, Professor Doutor José de Jesus Ribeiro Gomes de Pinho, grande mestre, sempre pronto a dividir seu vasto conhecimento. Levarei seus ensinamentos por toda a vida.

Aos professores Dr. Orlando Sousa e Dra. Maria Silvana Alves pela valiosa contribuição.

Ao Dr. João Mansur, que por intermédio de sua esposa, Dra. Cristina Mansur, generosamente me cedeu cópia de sua tese de doutorado, base para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigada pela confiança de ambos.

Aos funcionários e bolsistas do Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais, em especial a Geórgia pela disponibilidade.

Aos professores e colegas do mestrado pela convivência e aprendizado. Jucélia e Vanessa, a colaboração de vocês foi fundamental.

Vanessa e Kamilla, obrigada por abrirem as portas de suas casas e me acolherem de modo tão especial.

RESUMO

A exposição inadequada a radiação solar ocasiona sérios danos a pele, como queimaduras, fotoenvelhecimento, queratose actínica e câncer, sendo por isso motivo crescente de preocupação por parte dos órgãos de saúde. Estima-se que no Brasil surjam 140.000 novos casos de câncer de pele em 2012. O principal mecanismo pelo qual a radiação UV danifica a pele é através da lesão ao DNA, que pode ser direta, por dimerização de suas bases, ou indireta, via ação de espécies reativas de oxigênio. Uma das formas de evitar os efeitos nocivos da radiação solar é a utilização de protetores solares. Estudos tem sido realizados com a finalidade de ampliar o fator de proteção solar (FPS) pela associação de extratos vegetais com filtros orgânicos. Vegetais ricos em compostos fenólicos e flavonóides são de particular interesse por estarem relacionados a atividade fotoprotetora e antioxidante. Nesse sentido, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar o potencial fotoprotetor e a atividade antioxidante *in vitro* de extratos de *Mikania glomerata*, *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aquillea millefolium* e *Aesculus hippocastanum* e das substâncias bioativas rutina e vanilina. Os teores de compostos fenólicos e flavonóides dos extratos foram determinados espectrofotometricamente e a atividade antioxidante de extratos, rutina e vanilina foi avaliada frente ao radical DPPH. Formulações em gel e emulsão O/A foram preparadas associando-se 5% do filtro orgânico ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico a 3,5% v/v de extratos, 0,1% ou 0,25% de rutina ou vanilina e os valores de FPS determinados espectrofotometricamente pelo método de Mansur. O extrato de *A. hippocastanum* produziu a maior elevação de FPS do gel, enquanto a rutina 0,25% produziu o valor mais elevado de FPS da emulsão. O extrato de *A. hippocastanum* demonstrou o maior potencial fotoprotetor e antioxidante, podendo ser considerado promissor adjuvante em formulações de protetores solares.

Palavras-chaves: Radiação UV. Filtros solares. Extratos vegetais. FPS *in vitro*. Antioxidantes.

ABSTRACT

Inadequate exposure to sun radiation causes serious skin damages, such as sunburn, photoaging, actinic keratosis and cancer, and therefore causes growing concern among health organizations. It is estimated that in Brasil 140.000 new cases of skin cancer will arise in 2012. The main mechanism in which the UV radiation damages the skin is through DNA lesion, which can be direct by dimerization of its bases, or indirectly via action of reactive oxygen species. One way to avoid the harmful effects of sun radiation is to apply sunscreens. Studies have been done aiming to increase the sun protection factor (SPF) by the association of plant extracts with organic filters. Plant extracts rich in phenolic and flavonoid compounds are of particular interest since they are related to photoprotective and antioxidant activities. Thus, this study aims to assess the potential photoprotection and the antioxidant activity *in vitro* of *Mikania glomerata*, *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aquillea millefolium* and *Aesculus hippocastanum* extracts, also the bioactive substances rutin and vanillin. The phenolic and flavonoids compound levels of the extracts were settled by spectrofotometry and the extract's antioxidant activity, rutin and vanillin, were evaluated against DPPH radical. Gel and O/W emulsion formulations were prepared by adding 5% of organic filter 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid to 3,5% v/v of extracts, 0,1% or 0,25% of rutin or vanillin and the SPF values determined spectrophotometrically by Mansur's method. The extract of *A. hippocastanum* produced the highest elevation of gel SPF, while 0.25% rutin produced the highest value of emulsion SPF. The extract of *A. hippocastanum* showed the greatest potential photoprotective and antioxidant, it can be considered promising in formulations of sunscreens.

Key words: UV Radiation. Sunscreens. Plant Extracts. SPF *in vitro*. Antioxidants.

Lista de Figuras

	Página
FIGURA 1: Espectro da radiação eletromagnética emitida pelo sol.	17
FIGURA 2: Demonstração da profundidade atingida pela radiação UVA e UVB na pele (comprimento de onda em nanômetros – nm).	19
FIGURA 3: Estrutura anatômica da pele.	22
FIGURA 4: Representação esquemática do mecanismo de ação de filtros orgânicos.	27
FIGURA 5: Estrutura de compostos fenólicos: fenilpropanóides (a), ácido cinâmico (b), ácido benzóico (c).	32
FIGURA 6: Estrutura básica de flavonoides.	32
FIGURA 7: Curva de calibração do ácido gálico para teste de fenóis totais.	49
FIGURA 8: Curva de calibração de rutina para teste de flavonoides totais.	49
FIGURA 9: Correlação entre a atividade antioxidante e o teor de fenóis totais dos extratos.	52
FIGURA 10: Espectro de absorção dos extratos na região do UV.	53
FIGURA 11: Valores de FPS fornecidos pelos espectros de absorção na região UVB.	54
FIGURA 12: Valores de FPS para protetores solares em gel.	56
FIGURA 13: Valores de FPS para os protetores solares em emulsão O/A.	57

Lista de Tabelas

	Página
TABELA 1: Composição quali-quantitativa de formulações fotoprotetoras.	47
TABELA 2: Teor de fenólicos e flavonóides totais dos extratos.	50
TABELA 3: Atividade antioxidante dos extratos, vanilina e rutina	51
TABELA 4: Análise estatística dos valores de FPS encontrados nas formulações em gel e emulsão O/A.	58
TABELA 5: Elevação % do FPS das formulações em relação ao FPS da formulação padrão.	60

Lista de Quadros

	Página
QUADRO 1: Valores do efeito eritematogênico e intensidade de radiação na faixa do UVB, normalizados para determinação do FPS por espectrofotometria.	38

Lista de Abreviaturas e Símbolos

ABTS	2,2' azinobis (3-etil-benzotiazolino-6-ácido sulfônico) sal diamônio
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
5-HT _{2A}	5-hidroxitriptamina _{2A}
8-oxodGuo	8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina
Abs	Absorbância
Abs(λ)	Absorbância no comprimento de onda λ
COOH	Ácido carboxílico
Cis-UCA	Ácido cis-urocânico
DNA	Ácido desoxirribonucléico
PABA	Ácido para-aminobenzóico
Trans-UCA	Ácido trans-urocânico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
α	Alfa
NH ₂	Amino
ANOVA	Análise de variância
O ₂ ⁻	Ânion superóxido
a.c.	Antes de Cristo
%AA	Atividade antioxidante percentual
ORAC	Capacidade de absorção de radicais de oxigênio
r	Coeficiente de correlação
R ²	Coeficiente de determinação
CE ₅₀	Concentração efetiva a 50%
EE(λ)	Efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda λ
EAG	Equivalente em ácido gálico
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EGb761	Extrato padronizado de <i>Ginkgo biloba</i>
FC	Fator de correção
FPS	Fator de proteção solar
AP-1	Fator de transcrição AP-1
TGF	Fator de transformação e crescimento

FDA	Food and Drug Administration
g	Gramas(s)
g/mL	Gramas(s) por mililitro
°C	Graus Celsius
IV	Infravermelho
INCA	Instituto Nacional de Câncer
I(λ)	Intensidade da luz solar no comprimento de onda λ
IL-15	Interleucina 15
IL-8	Interleucina 8
\pm	Mais ou menos
MMPs	Metaloproteinases de matriz
m ²	Metro quadrado
μ g/mL	Micrograma(s) por mililitro
μ L/mL	Microlitro(s) por mililitro
mg	Miligrama(s)
mg/mL	Miligrama(s) por mililitro
mg/cm ²	Miligramas por centímetro quadrado
mL	Mililitro(s)
mM	Milimolar
M	Molar
EpCAM	Molécula de adesão de células epiteliais
CD1a	Molécula glicolipídica apresentadora de antígenos
nm	nanômetros
O/A	Óleo em água
¹ O ₂	Oxigênio singlete
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
pH	Potencial hidrogeniônico
p53	Proteína p53
qsp	Quantidade suficiente para
H·	Radical hidrogênio
HO·	Radical hidroxila
CD205	Receptores de manose para macrófagos
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada

Colipa	The European Cosmetics Association
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
UVC	Ultravioleta C
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
VIS	Visível
v/v	Volume por volume
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1.	Radiação Solar	17
2.2.	Aspectos Gerais da Pele	22
2.3.	Protetores Solares	26
2.4.	Plantas e seus Constituintes com Potencial Fotoprotetor e Antioxidante	30
2.5.	Determinação do Fator de Proteção Solar	36
3.	OBJETIVOS	39
3.1.	Objetivo Geral	39
3.2.	Objetivos Específicos	39
4.	MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1.	Material	40
4.1.1.	Equipamentos e Vidrarias	40
4.1.2.	Matérias-primas e Reagentes	40
4.2.	Métodos	42
4.2.1.	Testes para Fenóis Totais	42
4.2.2.	Testes para Flavonóides Totais	43
4.2.3.	Ensaio Antioxidantes com DPPH (adaptado)	43
4.2.4.	Determinação do Fator de Proteção Solar <i>in vitro</i>	45
4.2.4.1.	Obtenção do espectro de absorção na região UV	45
4.2.4.2.	Determinação de FPS dos Extratos	45
4.2.3	Determinação de FPS em Formulações de Protetores Solares	46
4.2.4.3.1.	Preparo das Formulações	46
4.2.4.3.2.	Determinação de FPS de Formulações	48
4.2.5.	Análise Estatística	48
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
6.	CONCLUSÕES	61
7.	REFERÊNCIAS	63

1. INTRODUÇÃO

Atualmente é grande a preocupação com a exposição excessiva à radiação solar, principalmente devido à redução da camada de ozônio, proteção natural por absorver parte da radiação solar mais energética (WANG, BALAGULA & OSTERWALDER, 2010). O sol emite amplo espectro de radiações com características eletromagnéticas, como ondas de rádio, não-ionizantes, ultravioleta (UV), visível (VIS) e infravermelho (IV). Dentre essas, a radiação UV é a mais nociva, sendo responsável pelos fotodanos cutâneos (ARAÚJO & SOUZA, 2008).

A radiação UV pode ser subdividida em três faixas: UVA (320-400nm), UVB (290-320nm) e UVC (200-290nm). Os efeitos nocivos e sua intensidade variam de acordo com a faixa de radiação. Praticamente a totalidade da radiação UVC é bloqueada pela camada de ozônio, sendo então de maior importância para a saúde humana as radiações UVA e UVB. A radiação UVB tem baixo poder de penetração e é mais energética, por isso causa danos agudos e crônicos à pele, como queimaduras, manchas, descamação e câncer de pele. A radiação UVA é menos energética, penetra mais profundamente atingindo a derme, produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs), responsáveis pelo fotoenvelhecimento, fotossensibilidade e contribuindo para o desenvolvimento do câncer de pele (LUCAS *et al.*, 2006; ARAÚJO & SOUZA, 2008). Segundo a Sociedade Brasileira de Dermatologia (2006), o câncer de pele é a neoplasia de maior incidência em vários países do mundo, inclusive no Brasil. Dados do Instituto Nacional de Câncer (2011) estimam que cerca de 140.000 novos casos de câncer de pele surgirão no Brasil em 2012.

A pele, maior órgão do corpo humano, tem a função de proteção contra agentes externos e está dividida basicamente em três camadas: epiderme, derme e hipoderme. Na epiderme, camada mais externa, é sintetizada a melanina, pigmento marrom-escuro que dá coloração à pele e absorve as radiações UV e VIS, garantindo fotoproteção à pele por meio de um bloqueio químico (HENRIQUES, 2008). Além disso, a epiderme contém ainda substâncias antioxidantes, como

enzima superóxido dismutase e as vitaminas C e E, defesas naturais que removem EROs da pele (FONSECA, 2010).

Embora a pele possua defesas contra os efeitos da radiação solar, é necessário ampliá-las principalmente através do uso de protetores solares (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA, 2006). O protetor solar é uma preparação destinada à aplicação tópica com substâncias ativas que minimizam os efeitos da radiação solar. Existem basicamente dois tipos de substâncias ativas fotoprotetoras, denominadas filtros solares, químicos e físicos. Os filtros químicos são aqueles que absorvem a radiação solar através do anel aromático conjugado de suas estruturas, como por exemplo, aminobenzoatos, benzofenonas, cinamatos e salicilatos. Os filtros físicos atuam principalmente refletindo a radiação UV, sendo representantes dessa classe o dióxido de titânio e o óxido de zinco (WANG, BALAGULA & OSTERWALDER, 2010).

A espessura da camada aplicada, a frequência da aplicação, a perspiração e a exposição à água são determinantes na eficácia de um protetor solar (INCA, 2012). Um teste *in vivo* permite calcular a capacidade de redução das queimaduras causadas pela radiação UV, expressa numericamente pelo Fator de Proteção Solar (FPS), podendo ser utilizadas as metodologias Colipa (européia) ou FDA (americana), conforme preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2012b; MILESI & GUTERRES, 2002).

Apesar do método *in vivo* ser o mais adequado para determinação do FPS, as técnicas disponíveis mostram-se morosas e de difícil execução para o controle de qualidade dos protetores solares (ALVES *et al.*, 1991). Assim, foi desenvolvida por Mansur (1984) uma técnica espectrofotométrica na região UVB para determinação *in vitro* de FPS. Essa técnica possibilita a previsão da ação fotoquimioprotetora de substâncias, podendo também ser utilizada em estudos preliminares de novos filtros solares (FLOR, DAVOLOS & CORREA, 2007).

Dada a importância da fotoproteção como uma questão de saúde pública, existe um grande interesse no desenvolvimento de protetores solares com maior FPS e que proporcionem melhor proteção à pele mais clara. Nesse sentido, vários trabalhos têm destacado a atividade fotoprotetora e antioxidante de extratos e óleos

de plantas, cujos componentes apresentem estrutura semelhante aos filtros químicos (GUARATINI, MEDEIROS & COLEPICOLO, 2007; VELASCO *et al.*, 2008a; VIOLANTE *et al.*, 2009). Os metabólitos especiais das classes de fenólicos e de flavonóides apresentam essa característica e agem absorvendo a radiação solar, assim como reduzindo as espécies reativas de oxigênio formadas na pele por essa radiação (ROSA *et al.*, 2008). Como benefícios da utilização de extratos vegetais em protetores solares tem-se, além da fotoproteção, a redução do eritema, do fotoenvelhecimento e da fotocarcinogênese (CHEN, HU & WANG, 2012). As espécies *Mikania glomerata*, *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aquillea millefolium* e *Aesculus hippocastanum* por possuírem tais metabólitos foram selecionadas para estudo nesse trabalho.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Radiação Solar

O sol é a principal fonte de radiação eletromagnética. Sua energia irradiada atinge os mais diversos comprimentos de onda, subdividindo-se em radiação ionizante – raios X, raios gama – e não ionizante – ultravioleta (UV), visível e infravermelho (Figura 1). A superfície terrestre apenas é atingida pela radiação não-ionizante, visto que a radiação ionizante, de mais alta energia e, portanto, mais prejudicial, é absorvida pela atmosfera (SANCOVICH & SANCOVICH, 2006).



FIGURA 1 – Espectro da radiação eletromagnética emitida pelo sol. Disponível em: http://www.fismed.ufrgs.br/sol_efeitos.htm

Em se tratando de radiação não-ionizante, a radiação UV é a responsável pela maioria dos efeitos solares nocivos aos seres humanos. Dividida em três regiões, UVC (200-290nm), UVB (290-320nm) e UVA (320-400nm), o grau de incidência na Terra varia de acordo com a faixa de radiação. A radiação UVC é

absorvida pela camada de ozônio e a radiação UVB é atenuada, representando apenas 6% do total de radiação UV que atinge a superfície. Em contrapartida, a radiação UVA incide em sua totalidade, passando apenas por leves modificações durante o dia (HALLIDAY *et al.*, 2008; LUCAS *et al.*, 2006).

A exposição desmedida à radiação solar tem sido relatada como causa de várias doenças; de forma crônica pode causar queratose actínica, câncer das células escamosas e basais, enquanto a exposição esporádica, porém intensa, pode causar melanoma, o tipo mais perigoso de câncer de pele (WANG, BALAGULA & OSTERWALDER, 2010).

O fotodano cutâneo é sinalizado por moléculas – os cromóforos – que, após absorverem a radiação, sofrem modificações conformacionais ou estruturais e agem no surgimento de sinais de alarme como eritema, queimadura solar e imunossupressão. O mais importante cromóforo é a melanina, que absorve as radiações UVA e UVB. Em relação a radiação UVB, duas importantes moléculas de sinalização são o ácido trans-urocânico (trans-UCA) e o DNA (DUARTE, BUENSE & KOBATA, 2006; TIMARES, KATIYAR & ELMETS, 2008).

Após a exposição solar o trans-UCA é isomerizado a ácido cis-urocânico (cis-UCA), que estimula a liberação de neuropeptídeos pelas fibras neurais. Os neuropeptídeos, por sua vez, induzem a produção de histamina pelos mastócitos, o que leva a imunossupressão (PARIZI *et al.*, 2010). Essa supressão também pode ser mediada pela ligação do cis-UCA a receptores de serotonina 5-HT_{2A} em células do sistema de defesa da pele (TIMARES, KATIYAR & ELMETS, 2008).

As estruturas de DNA alteradas pela radiação solar desencadeiam uma cascata de reações biológicas que visam a detenção do ciclo celular e reparação do DNA afetado, evitando assim a replicação de células danificadas. Erros no reparo do DNA podem levar a mutações oncogênicas (TIMARES, KATIYAR & ELMETS, 2008).

Segundo Wang, Jameson e Hogquist (2009), a exposição à radiação UV reduz o número de células de Langerhans epidérmicas, além de aumentar sua migração em direção aos linfonodos. Em adição, tais células podem perceber os fotodanos cutâneos através de vesículas apoptóticas e mediadores solúveis

produzidos pelos queratinócitos em seus arredores (TIMARES, KATIYAR & ELMETS, 2008).

As radiações UVA e UVB agem de modos diferentes sobre a pele, devido às distintas intensidades de energia. A radiação UVA é menos energética, entretanto mais penetrante. Por sua vez, a radiação UVB apresenta maior energia e menor capacidade de penetração, atuando nas camadas superficiais da pele (MASSON & SCOTTI, 2003; TSILIMIGAKI *et al.*, 2003; AFAQ, 2011) (Figura 2).

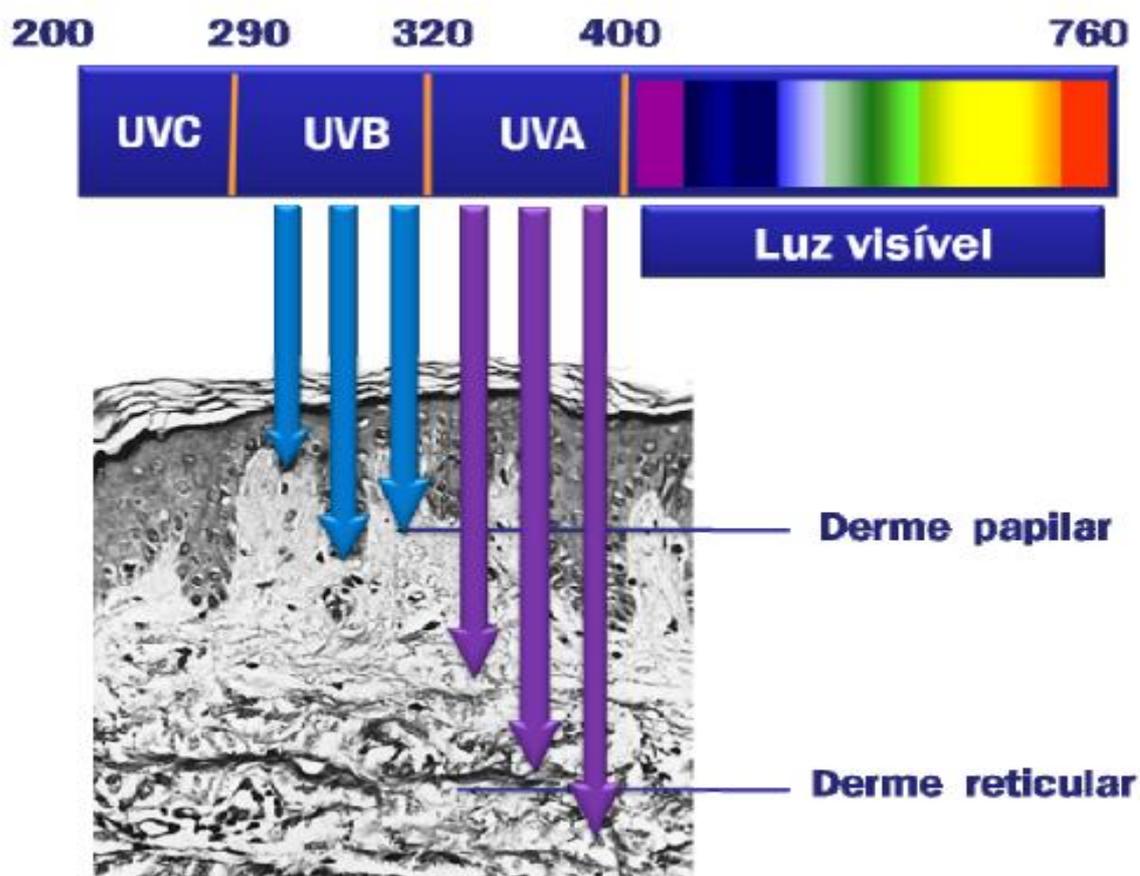


FIGURA 2 – Demonstração da profundidade atingida pela radiação UVA e UVB na pele (comprimento de onda em nanômetros – nm).
Fonte: Bedrikow, 2008

Devido a maior capacidade de penetração a radiação UVA é responsável por danos advindos de processos oxidativos. Após a absorção, a radiação UVA reage com oxigênio molecular levando à formação de espécies reativas de oxigênio

(EROs), que deflagram processos inflamatórios na pele e danificam o DNA (SOUZA, FISCHER & SOUZA, 2004).

As EROs são produtos do metabolismo normal que contêm um átomo de oxigênio, como ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radicais hidroxila ($HO\cdot$), oxigênio singlete (1O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Em condições extremas, como sob exposição à radiação UV, há uma superprodução de EROs, que tem elevado poder carcinogênico e danoso ao DNA. Como resultado da oxidação ocasionada por EROs pode ocorrer dano à membrana celular (peroxidação lipídica) ou até mesmo a bases do DNA, obtendo-se, por exemplo, a 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina (8-oxodGuo), utilizada como biomarcador para o dano oxidativo ao DNA (ICHIHASHI *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 1997).

Um dos efeitos da produção acentuada de EROs é o estímulo ao fator de transcrição AP-1, que regula a expressão gênica de algumas metaloproteinases de matriz (MMPs), enzimas responsáveis pela degradação das fibras de colágeno na pele. Além disso o AP-1, aliado à inibição do fator de transformação e crescimento (TGF) também provocada pelas EROs, reduz a síntese de colágeno, levando a flacidez da pele (RITTIÉ & FISHER, 2002).

Outros efeitos relacionados à ação UVA são bronzeamento via foto oxidação da melanina, fotoenvelhecimento intenso, acompanhado de hiperplasia epidérmica, queimadura celular, inflamação dérmica, depleção de células de Langerhans e alteração nas fibras elásticas da pele (COLDIRON, 1998; KULLAVANIJAYA & LIM, 2005).

A radiação UVB é mais energética, com penetração superficial, porém causando efeitos igualmente danosos, principalmente no estrato basal da epiderme. Alguns dos efeitos dessa radiação se manifestam por queimaduras solares, inflamação, dano ao DNA, imunossupressão, fotoenvelhecimento e câncer de pele (AFAQ, 2011).

A indução do câncer de pele via radiação UVB se dá diretamente, por sua absorção pelo DNA (TSILIMIGAKI *et al.*, 2003). São três os estágios de desenvolvimento: iniciação, promoção e progressão. Inicialmente, a radiação incide

sobre as células normais causando queimadura e dano ao DNA, o que leva a mutagênese. Em sequência, essas células, já iniciadas no processo de desenvolvimento do câncer, vão passar à fase de promoção, onde há apoptose deficiente, expansão clonal, alteração das vias de transdução de sinais e, conseqüentemente, formação de papiloma benigno, constituído por células pré-neoplásicas. A evolução dessa condição – fase de progressão – é dada pela transformação maligna dessas células, estabelecendo-se assim o câncer de pele. Para o desenvolvimento dessa patologia faz-se necessário uma exposição prolongada à radiação solar, de anos ou até mesmo décadas (AFAQ, 2011; MASSON & SCOTTI, 2003).

Expressa nos primeiros 30 minutos após exposição solar, a proteína p53 pode prevenir a formação de células neoplásicas por dois mecanismos: a manutenção do repouso em células com dano no DNA ou a indução a apoptose caso o dano no DNA não possa ser revertido (FIGUEIREDO *et al.*, 2003; RONDON *et al.*, 2005; SGARBI, CARMO & ROSA, 2007). Entretanto, a exposição crônica à radiação leva a mutações no gene p53, que impedem a expressão da proteína e, por consequência, sua ação no controle do ciclo celular, o que propicia a propagação de células defeituosas e sua malignização (ELLER, ASARCH & GILCHREST, 2008; MORALES & LÓPEZ-NEVOT, 2006).

Como fonte alternativa de radiação UV, a câmara de bronzamento artificial é frequentemente utilizada para obtenção ou manutenção de bronzeado sem necessidade exposição solar. Entretanto os danos cutâneos advindos da radiação UV proveniente dessas câmaras são mais intensos que os ocasionados pela exposição ao Sol, visto que seus níveis de radiação UV são mais elevados e há uma modificação na relação UVA:UVB em comparação com a radiação solar. Devido ao potencial carcinogênico desses equipamentos, diversos países tem restringido ou banido seu uso, como é o caso do Brasil (LIM *et al.*, 2011); em 2009 a ANVISA publicou a RDC nº 56, proibindo o uso de câmaras de bronzamento artificial para fins estéticos no país (BRASIL, 2009).

2.2. Aspectos Gerais da Pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, recobrendo uma superfície maior que 2m². Sua constituição é estratificada, sendo dividida em três diferentes camadas, constituídas por epiderme, derme e camada adiposa subcutânea (CHANDA & BARAVALIA, 2010; IDSON & LAZARUS, 2001) (Figura 3).

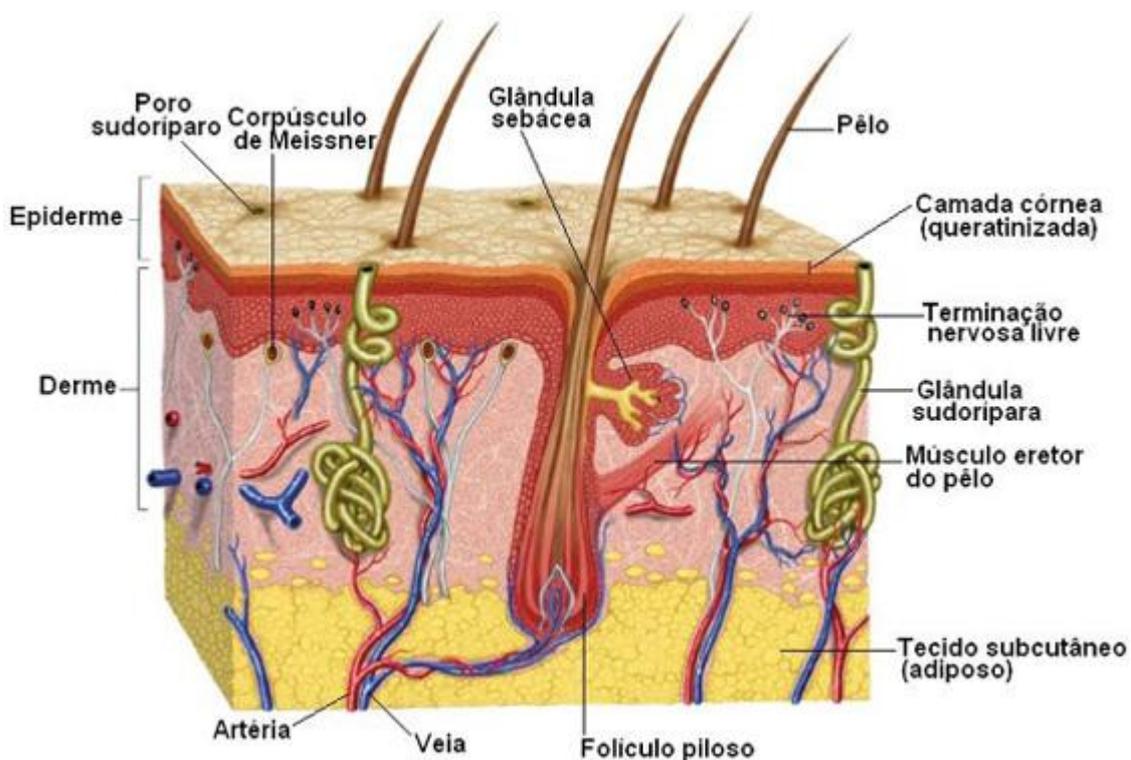


FIGURA 3 – Estrutura anatômica da pele. Disponível em <http://www.auladeanatomia.com/tegumentar/tegumentar.htm>

A epiderme é a camada mais externa da pele, atuando como barreira física, química, bioquímica e imunológica. Superficialmente, a epiderme é composta pelo estrato córneo. Suas células, os corneócitos, são justapostas, queratinizadas, funcionalmente mortas, inseridas em um envelope composto por ligações cruzadas de proteínas e lipídios apolares covalentemente ligados, organizados de forma lamelar. A matriz extracelular é composta principalmente de ceramidas, colesterol e

ácidos graxos livres. Por sua constituição e interface com o ambiente, o estrato córneo funciona como principal barreira à perda de umidade e a permeação cutânea de substâncias, além de fornecer proteção física e mecânica (BOUWSTRA *et al.*, 2003; ELIAS, 2007; FEINGOLD, 2009; IDSON & LAZARUS, 2001; MADISON, 2003; MENON & KLIGMAN, 2009; O'NEILL & GARROD, 2011; PROKSCH, BRANDNER, JENSEN, 2008). Os corneócitos estão unidos à camada inferior do estrato córneo, o estrato granuloso, por corneodesmossomos, placas protéicas presentes em células vizinhas, interligadas por filamentos, que garantem a junção entre elas (PROKSCH, BRANDNER & JENSEN, 2008).

Os estratos granuloso e espinhoso encontram-se abaixo do estrato córneo, nessa ordem. O estrato basal é a camada mais profunda da epiderme responsável pela geração do estrato córneo a partir de modificações e migração das células basais, os queratinócitos (BOUWSTRA *et al.*, 2003; LADEMANN *et al.*, 2007). Os queratinócitos deixam a camada basal, diferenciam-se e migram através das camadas superiores, até atingirem o estrato córneo sob a forma de corneócitos, promovendo assim descamação superficial e controlando o processo de renovação epidérmica. A última etapa de diferenciação dos queratinócitos envolve modificações estruturais profundas para conferir a resistência física e química necessária aos corneócitos (BOUWSTRA *et al.*, 2003).

Outro tipo de célula que compõe a epiderme é o melanócito, célula dendrítica derivada da crista neural, especializada na produção de melanina, responsável pela pigmentação cutânea, além de conferir fotoproteção contra radiação UV (ERNFORS, 2010; MIOT *et al.*, 2009, THIBODEAU & PATTON, 2002). A fotoproteção atribuída à melanina deve-se principalmente à capacidade de absorver a radiação UV, reduzindo sua penetração na pele (BRENNER & HEARING, 2008).

A formação do pigmento no melanócito (melanogênese) inicia-se em vesículas amorfas, os premelanossomas, através da oxidação da L-tirosina à L-dopa e da L-dopa a dopaquinona, pela ação da enzima tirosinase e outras enzimas reguladoras da mesma família. A dopaquinona por sua vez converte-se espontaneamente a leucodopacromo e dopacromo, que entram em uma cascata de reações bioquímicas para formação de eumelanina, pigmento preto-acastanhado. A

conjugação de dopaquinona com cisteína e glutatona e transformação dos conjugados em cascatas bioquímicas leva a formação de outro pigmento, a feomelanina, que apresenta cor vermelho-amarelada. O preenchimento total dos premelanossomas com os dois pigmentos sintetizados finaliza o processo de melanogênese dando origem assim aos melanossomas (BIESEMEIER *et al.*, 2010; BRENNER & HEARING, 2008; OLIVEIRA & ALMEIDA JÚNIOR, 2003). Concentrados principalmente na camada basal e suprabasal, os melanócitos transferem seus melanossomas através dos dendritos que ligam-se a cerca de 36 queratinócitos, formando a unidade epidermomelânica (MIOT *et al.*, 2009; AZULAY, 2008).

A exposição ao sol leva à proliferação e migração dos melanócitos em direção a epiderme. Além disso, a radiação UV excita a enzima tirosinase, levando a formação de melanossomas maiores e mais numerosos (AZULAY, 2008; ELLER, ASARCH & GILCHREST, 2008; YAMAGUCHI, BEER & HEARING, 2008). A eumelanina é a principal responsável pela absorção e dispersão da radiação UV, apresentando efeitos antirradicais livres adicionais. Apesar da melanina ser uma proteção natural da pele contra os efeitos da radiação UV, a exposição prolongada e inadequada a esse estímulo pode levar a danos cutâneos. A feomelanina tem elevado potencial fotodegradante pela geração de EROs e indução de mutações em várias células cutâneas, incluindo os melanócitos. A feomelanina induz ainda a apoptose celular e aumenta a liberação de histamina, produzindo edema e eritema cutâneos (BRENNER & HEARING, 2008; MIOT *et al.*, 2009; YAMAGUCHI, BEER & HEARING, 2008).

Componentes imunológicos da pele, as células de Langerhans são dendríticas, distribuídas desde a camada basal até a granulosa, concentrando-se na posição suprabasal. Apresentam estruturas internas chamadas grânulos de Bierbeck, que funcionam como fagolisossomos. Têm a função de expor aos linfócitos T e B os antígenos por elas processados e armazenados em sua superfície (AZULAY, 2008; BOUWSTRA *et al.*, 2003; MERAD, GINHOUX & COLLIN, 2008; ROCHA, 2009; SANTOS *et al.*, 2010). As células de Langerhans estendem seus dendritos sobre os queratinócitos circunvizinhos, permanecendo aderidas a eles pela produção de E-caderina e molécula de adesão de células epiteliais (EpCAM). A E-

caderina permite ainda a ligação a α_E -integrina, expressa por linfócitos T epiteliais (MERAD, GINHOUX & COLLIN, 2008). A langerina e a CD205, receptores de lecitina, juntamente com a proteína CD1a, estão envolvidas na captura e processamento de antígenos microbiológicos, sendo a primeira útil como marcador de células de Langerhans (KLECHEVSKY *et al.*, 2008; MERAD, GINHOUX & COLLIN, 2008). Como parte de sua resposta imunológica, as células de Langerhans produzem citocinas pró-inflamatórias – IL-8 e IL-15 (KLECHEVSKY *et al.*, 2008).

Estabelecendo a ligação entre a epiderme e a camada inferior, a derme, está a junção dermo-epidérmica, camada sinuosa e interpenetrante de células, onde a epiderme penetra a derme por meio de cones interpilares (cristas epidérmicas) e a derme projeta-se na epiderme por papilas dérmicas (AZULAY, 2008). O ancoramento dessa junção é garantido pela presença de hemidesmossomos ligando os queratinócitos a membrana basal e fibrilas ligando a membrana basal ao estroma dérmico. Tais fibrilas são compostas principalmente por colágeno VII. A manutenção dessa junção é de grande importância para a resistência da pele (LEINEWEBER, SCHÖNIG & SEEGER, 2011; VILLONE *et al.*, 2008).

A derme é a camada que fornece sustentação mecânica à pele (BOUWSTRA *et al.*, 2003). Composta por colágeno tipos I e III, fibras elásticas, espaço interfibrilar de glicosaminoglicanos, sais e água, abriga em sua estrutura glândulas sudoríparas e sebáceas, vasos sanguíneos, nervos e folículos pilosos (POLLOCK, 2005; RNJACK *et al.*, 2011). Em sua camada superficial, as papilas dérmicas, estão receptores de toque e terminações nervosas livres. A derme reticular, camada mais profunda, apresenta-se como tecido conectivo denso, irregular, repleto de feixes de colágeno formando uma rede entrecortada por fibras elásticas horizontais espessas (RNJACK *et al.* 2011).

Os fibroblastos dérmicos apresentam diferenças morfofuncionais de acordo com a camada que ocupam – papilar ou reticular. Cinética de proliferação, taxa de contração das redes de colágeno tipo I, síntese de proteoglicanos, tamanho e empacotamento distintos foram observados em cultura dessas células (WANG *et al.*, 2008). Os fibroblastos são responsáveis pela síntese e degradação de proteínas do

tecido conectivo e de fatores mensageiros solúveis para epiderme, vasos e outras células (AZULAY, 2008; KOCH *et al.*, 2011).

Células com função imunológica também compõem a derme, como histiócitos, mastócitos e células dendríticas. Essas são responsáveis pela resposta a antígenos que desviaram da proteção epidérmica ou penetraram a pele via vascular (OCHOA *et al.*, 2008).

A hipoderme, ou tecido adiposo subcutâneo, camada mais interna da pele, está presente logo abaixo da derme e tem as funções de proteção, armazenamento energético e isolamento térmico (MEIRA, MORAES & BÖHME, 2009; SILVA, 2010). Suas células, os adipócitos, são capazes de sintetizar citocinas, as adipocinas, que estão envolvidas em processos fisiológicos variados (YARAK & OKAMOTO, 2010).

2.3. Protetores Solares

Tendo em vista as propriedades danosas da radiação solar, intensas pesquisas tem sido realizadas no intuito de descobrir novas substâncias com capacidade fotoprotetora. Tais substâncias são os filtros solares, que podem ser divididos em químicos e físicos (MILESI & GUTERRES, 2002).

Os filtros químicos são também conhecidos como filtros orgânicos ou solúveis. Sua ação baseia-se na capacidade de absorver radiação UVA e/ou UVB e dissipá-la pela reemissão a um comprimento de onda menos energético ou através de um ciclo fotoquímico que resulta em isomerização cis-trans ou tautomerização ceto-enólica. Esse processo é possível graças a estrutura contendo um anel aromático e uma cadeia lateral com diferentes graus de insaturação ou um grupo carbonila, comum a diversos filtros químicos (CHRÉTIEN, HEAFEY & SCAIANO, 2010; DÍAZ-CRUZ, LLORCA & BARCELÓ, 2008; FLOR, DAVOLOS & CORREA, 2007; FORESTIER, 2008; IANNUCELLI *et al.*, 2006; KRISHNAN & NORDLUND, 2008) (Figura 4).

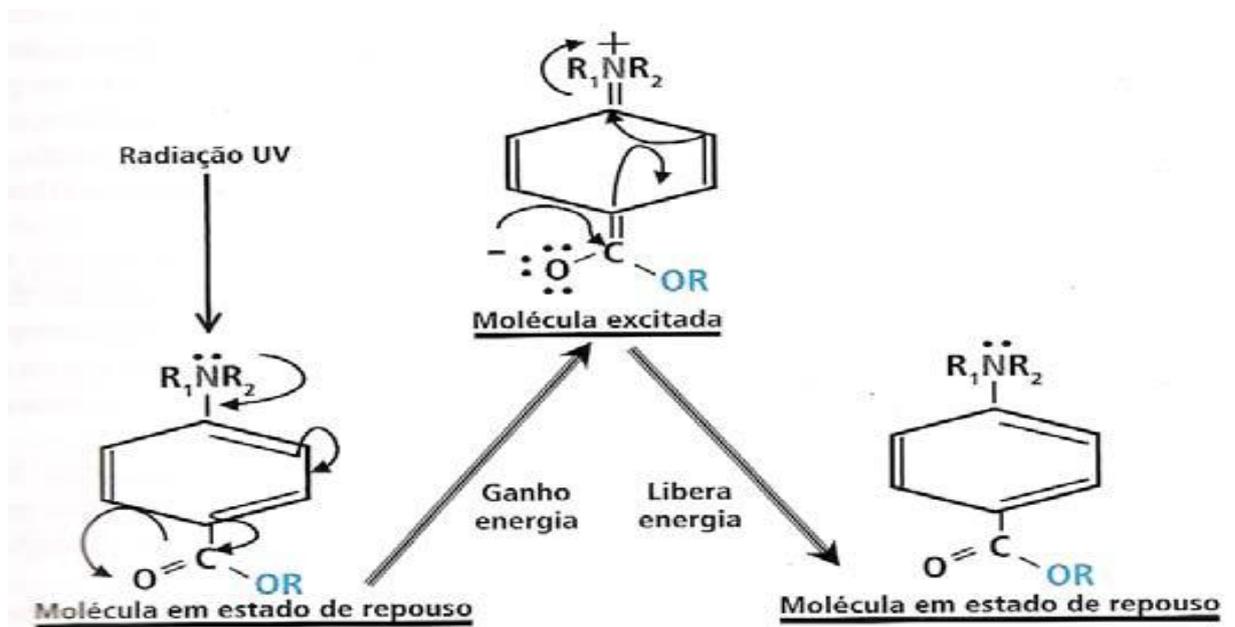


FIGURA 4 – Representação esquemática do mecanismo de ação de filtros químicos.
Fonte: Ribeiro, 2006

São vários os filtros químicos disponíveis (DÍAZ-CRUZ, LLORCA e BARCELÓ, 2008). Abaixo estão descritos alguns grupos desses compostos:

Benzofenonas e derivados: introduzidos na formulação de protetores solares a partir de 1970, sua estrutura básica consiste de dois anéis benzênicos, ligados por um grupo carbonila. Absorvem luz nos comprimentos de onda de 200-400nm, sendo protetores UVA e UVB. Alguns representantes dessa classe são benzofenona, benzofenona-3, 4 e 10, hidroxibenzofenona-2, 3 e 4; dentre eles o mais amplamente utilizado é a benzofenona-3. Apesar da ampla utilização como filtro solar, vários estudos relatam atividade agonista ou antagonista esteroide das benzofenonas, que são absorvidas após aplicação tópica, podendo prejudicar a saúde humana. Adicionalmente, a benzofenona-3 foi definida como o principal fotoalergeno de formulações fotoprotetoras, mais potente na causa de alergia de contato que fragrâncias ou conservantes (KAWAGUCHI *et al.*, 2008; MOLINA-MOLINA *et al.*, 2008; WONG & ORTON, 2011). Outro composto importante desse grupo é a avobenzona, potente protetor UVA, porém fotoinstável, podendo afetar a

estabilidade de outros filtros solares da formulação (CHATELAIN & GABARD, 2001; PARIS *et al.*, 2008; SAMBANDAN & RATNER, 2011).

Ácido p-aminobenzóico e derivados: um dos primeiros compostos utilizados como fotoprotetor foi o ácido p-aminobenzóico – PABA. Sua estrutura consiste de um anel benzênico com substituintes NH₂ e COOH em posição *para*. Pouco hidrossolúvel, com grande potencial de absorção na região do UVB, suas formulações tinham o inconveniente de manchar a roupa e estavam associadas a vários relatos de reações alérgicas. Modificações estruturais foram realizadas e os ésteres derivados passaram a ser a opção, entretanto por também apresentarem potencial alergênico foram substituídos por outros tipos de filtro (GASPARRO, MITCHNICK & NASH, 1998; KIMBROUGH, 1997; SANCHÉZ-SALDAÑA *et al.*, 2002; WANG, HUANG & TAI, 2007).

Salicilatos: os principais representantes dessa classe são homossalato e octissalato. São os mais fracos protetores UVB, entretanto seguros, o que possibilita utilização em altas concentrações. Apresentam boa fotoestabilidade e lipossolubilidade, agem em formulações associadas protegendo filtros fotoinstáveis ou como solventes para outros filtros (PALM & O'DONOGHUE, 2007; SAMBANDAN & RATNER, 2011).

Cinamatos: protetores UVB, fracamente hidrossolúveis, apresentam boa segurança e poucos relatos de alergia cutânea. São membros dessa classe octilmetoxicinamato (octinoxato) e etoxietil-p-metoxicinamato (cinoxato). Dentre eles, o octinoxato é o mais potente e menos hidrossolúvel, portanto bastante útil em preparações resistentes a água (AVENEL-AUDRON, 2010; MONZÓN *et al.*, 2009; PALM & O'DONOGHUE, 2007; SAMBANDAN & RATNER, 2011).

Derivados canforados: compostos bicíclicos, altamente fotoestáveis, com espectro de absorção em UVB. Fazem parte dessa classe 4-metilbenzilideno cânfora, 3-benzilideno cânfora e ácido tereftalideno dicânfora sulfônico, sendo o último, ao contrário dos demais, um potente protetor UVA com propriedades antiidade (RIGEL *et al.*, 2005; SASSON *et al.*, 2009).

Triazinas: esse grupo compreende compostos que apresentam atividade protetora UVB e boa segurança, como etilexiltriazona e dietilbutaminotriazona. A bis-etilhexiloxifenol metoxifenil triazina, composto do mesmo grupo, age absorvendo radiação UVA e UVB. É lipossolúvel, fotoestável e seguro, utilizado para estabilizar formulações que contenham avobenzona e octilmetoxicinamato (GONZALEZ *et al.*, 2011; TUCHINDA *et al.*, 2006)

Benzotriazóis: caracterizam-se estruturalmente por um grupo hidroxifenilbenzotriazol ligado a cadeia siloxano. Drometrisol trisiloxano é lipossolúvel, efetivo contra radiação UVA e UVB, comumente associado a derivados canforados com espectro UVA. Metileno-bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol é fotoprotetor UVA e UVB, apresenta-se como micropartículas orgânicas adequadas a suspensão aquosa. Combina efeitos de protetores orgânicos e inorgânicos, atuando com sinergia junto a filtros lipossolúveis (TUCHINDA *et al.*, 2006).

Derivados benzimidazóis: tetrasulfonato de fenil dibenzimidazol dissódico é um filtro UVA hidrossolúvel que age sinergicamente a filtros lipossolúveis (TUCHINDA *et al.*, 2006). Ácido fenilbenzimidazol sulfônico é hidrossolúvel na forma de sal e altamente potente contra radiação UVB (BASTIEN *et al.*, 2010; GOMAA *et al.*, 2010). Comumente utilizado como potencializador do efeito de outros filtros, não foram relatados efeitos fotossensibilizantes ou irritação da pele associados a seu uso, porém pesquisas indicam geração de radicais livres por esse composto, potencialmente danosos à pele (GOMAA *et al.*, 2010).

Outros: octocrileno é um filtro UVB lipossolúvel, utilizado como fotoestabilizante para outros filtros, como avobenzona (SCALIA & MEZZENA, 2009). O polisilicone 15 é líquido, lipossolúvel e apresenta espectro contra UVB, devido a cadeia polisiloxano que funciona como grupo cromóforo (BERG-SCHULTZ *et al.*, 2005).

Os filtros físicos, também denominados inorgânicos, são moléculas que atuam refletindo, absorvendo ou espalhando a radiação UV. O tamanho da partícula influencia a capacidade fotoprotetora, uma camada espessa de formulação com protetor de partículas grandes aumenta a capacidade de reflexão do filtro físico, a redução do tamanho da partícula resulta em menor opacidade e maior aceitação

cosmética, porém diminui a eficiência de espalhamento e absorção da luz. Dióxido de titânio e óxido de zinco são os filtros físicos mais amplamente utilizados (BUCHALSKA *et al.*, 2010; HEXSEL *et al.*, 2008).

O dióxido de titânio é uma substância fotoestável, inerte, insolúvel, que existe em três formas cristalinas: anatásio, rutilo e bruquita. As formas mais adequadas a função fotoprotetora são anatásio e rutilo, preferencialmente associadas (BUCHALSKA *et al.*, 2010). Ativo contra radiação UVA e UVB, apresenta o inconveniente de deixar aspecto opaco e esbranquiçado na pele após aplicação da formulação. Para reduzir esse efeito estratégias como revestimento e preparação de nanopartículas de dióxido de titânio tem sido adotadas (NEWMAN, SCOTLAND & ELLIS, 2009; SADRIEH *et al.*, 2010; TYNER *et al.*, 2011).

O óxido de zinco é fotoestável, não fotoreativo e não fotocatalítico (NASH, 2006). Utilizado como partículas microfinas, apresenta excelente atividade anti-UVA e UVB, sendo considerado mais efetivo que o dióxido de titânio, além de apresentar maior transparência, fato que favorece a estética da formulação. Para tanto é importante que as partículas tenham tamanho entre 50 e 100nm e pouca tendência a agregação (SUCHANECK, 2009). A micronização solucionou problemas anteriormente relacionados com as formulações de óxido de zinco, como comedogenicidade, fusão após exposição solar e descoloração de roupas (PALM & O'DONOGHUE, 2007).

2.4. Plantas e seus Constituintes com Potencial Fotoprotetor e Antioxidante

A energia solar é essencial para as plantas, entretanto o excesso de radiação pode ser prejudicial. Essa energia é considerada excessiva quando ultrapassa a capacidade fotossintética da planta e a habilidade de assimilá-la sob a forma de carbono (MURCHIE & NIYOGI, 2011; SOLOVCHENKO & MERZLYAK, 2008). Nesse contexto, como forma de defesa ao estímulo da radiação solar, a planta produz metabólitos especiais fotoprotetores, dentre eles compostos fenólicos e flavonóides

(HERNÁNDEZ *et al.*, 2009; KHAZAELI & MEHRABANI, 2008; TAKAHASHI & BADGER, 2011). Estudos indicam que essas substâncias podem agir como fotoprotetores em formulações de filtros solares, por possuírem estrutura química semelhante aos filtros químicos (EDREVA *et al.*, 2008; KHAZAELI & MEHRABANI, 2008), ou ainda como adjuvantes, estabilizantes e potencializadores da atividade de filtros sintéticos (WU *et al.*, 2010). Segundo Adhami *et al.* (2008), os mecanismos pelos quais essas substâncias atuam como fotoquimioprotetores incluem estimulação da resposta imune, indução da supressão gênica, bloqueio do dano oxidativo ao DNA, detoxificação de carcinogênese, inicialização da cascata de sinalização, dentre outros.

Os compostos fenólicos caracterizam-se por uma estrutura com ao menos um anel aromático hidroxissubstituído (Figura 5), podendo variar de simples a complexas moléculas de alto peso molecular. Dentre o grupo dos fenólicos estão os fenilpropanóides, C₆-C₃ (Figura 5a), ácido cinâmico (Figura 5b) e seus derivados, utilizados como flavorizantes, perfumes e filtros UVA e UVB (BURLANDO *et al.*, 2010) e os derivados benzóicos (Figura 5c), C₆-C₁, com substituintes hidroxí e ou metoxi e um grupamento carboxílico (FIGUEROA-ESPINOZA & VILLENEUVE, 2005). Os compostos fenólicos são antioxidantes hidrofílicos que apresentam atividade antiinflamatória e fotoprotetora UV (FIGUEROA-ESPINOZA & VILLENEUVE, 2005; NICHOLS & KATIYAR, 2010). Rice-Evans, Miller & Paganga (1996) destacam maior atividade antioxidante dos derivados cinâmicos em relação aos benzílicos, devido ao efeito eletro-retirador do grupo carboxílico presente no último grupo, que reduz sua habilidade doadora de elétrons.

A vanilina, aldeído aromático derivado do ácido cinâmico (DEWICK, 2002), utilizado como flavorizante na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (PACHECO & DAMASIO, 2010), possui propriedades farmacológicas antioxidante (MAHAL, BACHEKA & MUKHERJEE, 2001), antimutagênica, anticlastogênica e anticarcinogênica (DURANT & KARRAN, 2003), inibindo inclusive a carcinogênese induzida pela radiação UV em camundongos (LEY & REEVE, 1996). Estudos relatam o uso da vanilina como fotoprotetor para formulações farmacêuticas fotoinstáveis (THOMA, 1996). A vanilina natural é obtida da orquídea *Vanilla planifolia* com um rendimento de 2% em peso. Devido a grande aplicação química,

alimentícia, farmacêutica e cosmética, rotas sintéticas foram desenvolvidas para suprir sua demanda comercial (DAUGSCH & PASTORE, 2005).

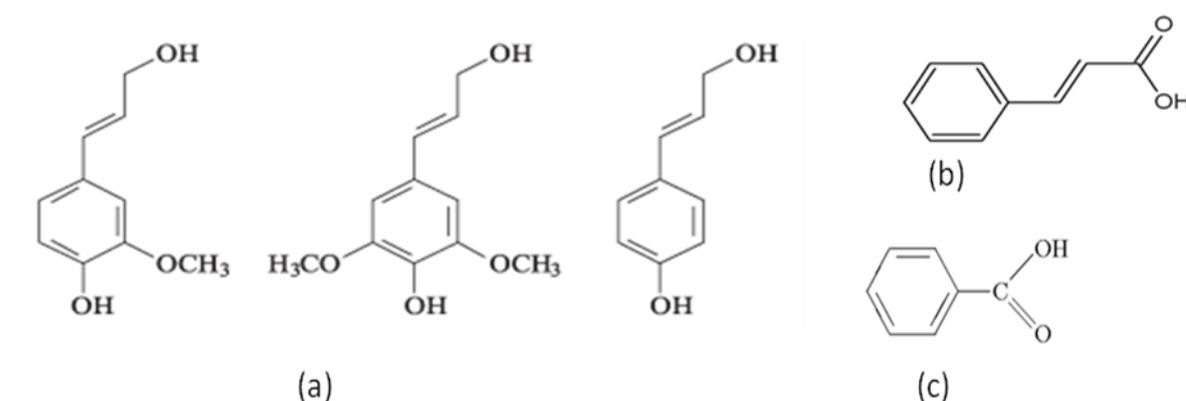


FIGURA 5 – Estrutura de compostos fenólicos: fenilpropanóides (a), ácido cinâmico (b), ácido benzóico (c).

Flavonóides são metabólitos especiais relacionados à coloração e fotoproteção em plantas. Quimicamente são fenilbenzopiranos de quinze carbonos, com estrutura básica composta por dois anéis benzênicos ligados por uma ponte de três carbonos, $C_6-C_3-C_6$ (Figura 6), sendo os anéis hidroxí ou metoxi substituídos em diferentes graus (BURLANDO *et al.*, 2010; DEWICK, 2002). Os flavonóides apresentam capacidade antioxidante (HAENEN *et al.*, 2006), quelante de íons ferro e atividade anti-radicais livres, o que lhes garante propriedades anti-inflamatória e fotoprotetora, principalmente contra radiação UVB (AGATI & TATTINI, 2010; BONINA *et al.*, 1996; DEWICK, 2002; SAIJA *et al.*, 1998).

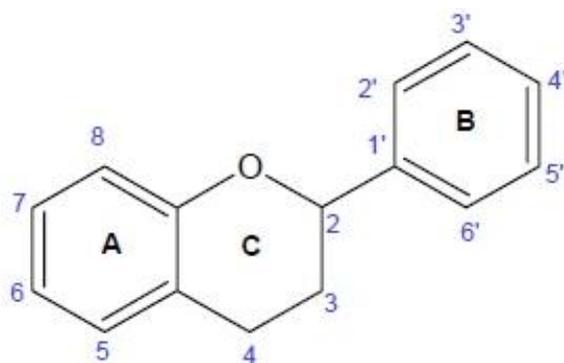


FIGURA 6 – Estrutura básica de flavonóides.

Dentre a classe dos flavonóides pode-se destacar a rutina, flavonóide glicosídico presente em várias fontes alimentares – cebola, maçã, feijão vermelho, tomate – e nas favas de *Dimorphandra mollis* Benth, árvore nativa do Brasil, na concentração de 8% (BECHO, MACHADO & GUERRA, 2009). Possui uma vasta gama de atividades farmacológicas comprovadas, dentre elas antioxidante, anticarcinogênica, citoprotetora, antiagregante plaquetária, antitrombótica, vaso e cardioprotetora (ZIAEE *et al.*, 2009; ABDEL-RAHEEM, 2010). Segundo Velasco *et al.* (2008a) e Choquenot *et al.* (2008), a rutina age sinergicamente a filtros solares químicos, promovendo elevação do FPS de emulsões tanto UVA quanto UVB. No Brasil a rutina é comercializada em associação com extratos de plantas, como medicamento para tratamento de problemas circulatórios (BRASIL, 2012a).

O interesse na utilização de produtos naturais como ativos fotoprotetores ou coadjuvantes da proteção solar vem crescendo, principalmente devido aos efeitos adversos causados por filtros sintéticos (AFAQ, 2011; HU & WANG, 1998; NASCIMENTO *et al.*, 2009; MATSUI *et al.*, 2009), como fotoalergenicidade, atividade estrogênica e antiandrogênica (BURNETT & WANG, 2011). Extratos de plantas que contêm flavonóides e compostos fenólicos são possíveis opções para utilização em formulações de protetores solares, pois além das propriedades anti-UV agem também como antioxidantes e antiinflamatórios (HONG *et al.*, 2012; MISHRA, MISHRA & CHATTOPADHYAY, 2011; MORABITO *et al.*, 2011; RANGEL & CORRÊA, 2002). Exemplos de plantas que contem esses metabólitos secundários são *Mikania glomerata*, *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aquillea millefolium* e *Aesculus hippocastanum*. Extratos hidroalcoólicos na concentração de 50% de *M. glomerata*, *G. biloba*, *M. chamomilla* e *A. hippocastanum* e extrato glicólico a 20% de *A. millefolium* são disponíveis comercialmente e utilizados em formulações farmacêuticas e cosméticas, principalmente magistrais (PLANTAMED, 2012).

O gênero *Mikania* pertence a família *Asteraceae*, está principalmente distribuído nas Américas do Sul e Central, sendo 171 espécies brasileiras. A espécie *Mikania glomerata* Sprengel, popularmente conhecida como guaco, é uma trepadeira arbustiva, com folhas verdes brilhantes que exalam um odor persistente de baunilha (CELEGHINI, VILEGAS & LANÇAS, 2001). Popularmente suas folhas tem sido utilizadas no tratamento de doenças respiratórias, como asma e bronquite,

além de combaterem a tosse (AMARAL *et al.*, 2003; CABRAL, SANTOS & ALHAIQUE, 2001). A cumarina, derivado lactônico do ácido cinâmico (DEWICK, 2002), é o principal metabólito especial da espécie, sendo relatada como grande responsável por suas atividades farmacológicas (ALVARENGA *et al.*, 2009; ROCHA *et al.*, 2008). O flavonóide 3-o-sulfato de mikanina foi isolado de *M. glomerata*, entretanto a classe de flavonóides apenas foi encontrada em treze espécies do gênero (CAROLLO, 2008). Terpenóides, glicosídeos antociânicos, ácidos, aldeídos e ésteres orgânicos, taninos, óleos essenciais, saponinas e esteróides também são metabólitos especiais descritos dessa espécie (GASPARETTO *et al.*, 2010).

Ginkgo biloba é a única espécie sobrevivente da família *Ginkgoaceae*, sua identificação foi feita por Linneo em 1771 (BILIA, 2002). Relatos do uso das sementes na Medicina Chinesa datam de 2800 a.c. (BEEK & MONTORO, 2009; BILIA, 2002). Extratos da folha começaram a ser prescritos na Alemanha em 1960 para o tratamento de problemas circulatórios (BEEK & MONTORO, 2009). A árvore é perene, decídua, e os órgãos reprodutores masculinos e femininos estão em plantas separadas. As folhas são simples, enervadas, de coloração amarelo brilhante no outono; as sementes assemelham-se a ameixas, amarelo-alaranjadas quando maduras, a polpa exala um odor fétido ao abrir (BILIA, 2002). Atualmente extratos da folha são utilizados no tratamento de disfunções cerebrais, principalmente senis, como dificuldade de concentração e memória, confusão, tontura e zumbido (LE BARS *et al.*, 1997; MAITRA *et al.*, 1995). Tais atividades farmacológicas são atribuídas a capacidade antioxidante do extrato, proporcionada pela ação sinérgica de flavonóides, terpenóides e ácidos orgânicos. O extrato EGb761, padronizado na Europa, apresenta composição definida: 24% de flavonóides e 6% de terpenóides (BEEK & MONTORO, 2009; BILIA, 2002; LE BARS *et al.*, 1997). Os flavonóides são principalmente quercetina, kaempferol e isorhamnetina, e os terpenóides ginkgolide A, B, C, J e bilobalide (BEEK & MONTORO, 2009; BILIA, 2002).

Matricaria chamomilla, popularmente conhecida como camomila germânica ou simplesmente camomila, é uma espécie da família *Asteraceae*, nativa do sul e leste da Europa, também encontrada no Brasil (SINGH *et al.*, 2011). É uma planta herbácea, anual e aromática. Suas flores são amarelo-douradas, agrupadas

formando uma inflorescência central; as flores internas são amarelas, hermafroditas, e as flores marginais são femininas, de corola lingulada, brancas (HARTMANN & ONOFRE, 2010; SINGH *et al.*, 2011; SRIVASTAVA, SHANKAR & GUPTA, 2010). Amplamente difundida na medicina popular como antiinflamatório, antisséptico, antiespasmódico, no tratamento de distúrbios gastrointestinais e condições inflamatórias da pele e mucosas, as flores são utilizadas na forma de chá, extrato, tintura, óleo ou pó. Os principais metabólitos especiais encontrados nos extratos das flores são terpenóides (α -bisabolol e seus óxidos, azulenos), flavonóides (quercetina, apigenina, luteolina, patuletina) e cumarinas (herniarina e umbeliferona), além de outros compostos fenólicos (BHASKARAN *et al.*, 2010; SINGH *et al.*, 2011; SRIVASTAVA & GUPTA, 2009; SRIVASTAVA, SHANKAR & GUPTA, 2010). Estudos demonstraram que óleos essenciais e flavonóides do extrato de camomila penetram profundamente a pele, fato esse importante para a ação antiinflamatória tópica (SRIVASTAVA, SHANKAR & GUPTA, 2010).

Aquillea millefolium é uma planta herbácea perene, da família *Asteraceae*, nativa da Europa, porém totalmente adaptada ao Brasil. Conhecida como mil folhas, é popularmente utilizada no tratamento de hemorragias, dor de cabeça, inflamação, dispepsia, flatulência, antiespasmódico, perda de apetite (APPLEQUIST & MOERMAN, 2011; BENEDEK & KOPP, 2007; SOUSA & VICCINI, 2011). A planta contém de 0,2 a 1,0% de óleo essencial; devido a característica polimórfica da espécie, a composição do óleo é dependente do número de cromossomos, sendo mais representativos mono e sesquiterpenos (WHO, 2005). Outros metabólitos especiais presentes são flavonóides (apigenina, luteolina), cumarinas e taninos (APPLEQUIST & MOERMAN, 2011; GLASL *et al.*, 2002; WHO, 2005). Pain *et al.* (2011) relataram que o extrato de *A. millefolium* a 0,5% aumentou a produção de marcadores de renovação epidérmica *in vitro*, bem como a utilização de uma emulsão água/óleo contendo extrato aquoso da planta a 2% durante dois meses melhorou a aparência de rugas e poros da pele quando comparado ao placebo e ao controle – 3,5% de ácido glicólico. Estudo realizado por Trumbeckaite *et al.* (2011) demonstrou a atividade antioxidante do extrato alcoólico 40% de *A. millefolium* frente ao radical livre DPPH, devida principalmente ao flavonóide luteolina e ao composto fenólico ácido clorogênico, presentes no extrato.

Aesculus hippocastanum, popularmente denominada castanha da Índia, é uma planta originária da Ásia, com ocorrência também na Europa e Estados Unidos da América (MACEDO & GEMAL, 2009). As sementes da árvore são utilizadas na medicina popular no tratamento de pedra nos rins, dores estomacais, hemorróidas, disfunções venosas e como antiinflamatório no tratamento de artrites, contusões, tendinites, entre outros (HARIKUMAR *et al.*, 2010; KÜÇÜKKURT *et al.*, 2010). O extrato da semente contém uma mistura complexa de saponinas triterpênicas glicosídicas denominadas escina ou aescina e altos níveis de flavonóides (quercetina e kaempferol) (WILKINSON & BROWN, 1999; KÜÇÜKKURT *et al.*, 2010). Estudos clínicos comprovaram atividade na insuficiência venosa crônica, no tratamento e redução de rugas faciais (REUTER *et al.*, 2010) e no aumento do sistema de defesa antioxidante do organismo (KÜÇÜKKURT *et al.*, 2010).

2.5. Determinação do Fator de Proteção Solar

A partir da constatação da necessidade do uso de protetores solares no combate aos efeitos danosos da radiação solar, surgiu uma nova preocupação, a garantia da eficácia dessas preparações. Como solução foi proposto o Fator de Proteção Solar (FPS), valor numérico que remete a capacidade temporal de determinada preparação fotoprotetora em oferecer proteção contra a queimadura solar, comparativamente à pele exposta sem proteção. O valor de FPS é dado pela equação (SCHALKA & REIS, 2011) (Equação 1):

$$\text{FPS} = \frac{\text{Dose eritematosa mínima na pele protegida}}{\text{Dose eritematosa mínima na pele desprotegida}}$$

EQUAÇÃO 1 – Cálculo do Fator de Proteção Solar (SCHALKA & REIS, 2011)

Segundo a Colipa (2006), a dose eritematosa mínima é definida como a menor dosagem de radiação UV necessária para produzir, após um período de exposição de 16 a 24 horas, o menor eritema, perceptível e bem definido, na pele.

Diversos métodos estão disponíveis para determinação do FPS, entretanto a ANVISA preconiza, através da RDC n° 30, de 01 de junho de 2012, que sejam adotadas, no Brasil, as normas Colipa ou FDA (BRASIL, 2012b). Ambas estabelecem a determinação *in vivo* do FPS, com diferenças sutis. Em termos gerais, os procedimentos são lâmpada de arco xenônio como simulador solar, aplicação de 2mg/cm² de formulação sobre o dorso inferior do braço e um número mínimo de 10 voluntários para Colipa e 20 para FDA (SCHALKA & REIS, 2011).

Apesar dos métodos *in vivo* serem indicados para determinação do FPS pela maioria das agências regulatórias mundiais, eles envolvem questões éticas pela utilização de voluntários, além de serem demorados e caros. Como alternativa, os métodos de determinação de FPS *in vitro* tornam-se vantajosos (DUTRA *et al.*, 2004; ROHR *et al.*, 2010). Dentre esses métodos os mais difundidos são o de transmitância difusa e o espectrofotométrico. A determinação do FPS por transmitância difusa baseia-se no fato de que a intensidade da radiação incidida nas formulações fotoprotetoras aplicadas sobre um substrato simulador da pele humana é maior na proximidade da incidência e espalha-se na direção hemisférica. Os substratos podem ser fita cirúrgica, membrana de colágeno ou filme de policloreto de vinila. Esse método é vantajoso pois permite obter tanto FPS UVA quanto UVB de formulações contendo filtros químicos e físicos (VELASCO *et al.*, 2011).

Mansur (1984) propôs um método espectrofotométrico para determinação do FPS em formulações contendo filtros químicos. O método fundamenta-se na absorvância de solução metanólica, isopropanólica ou etanólica de fotoprotetores na concentração de 0,2mg ou 0,2µL/mL, lida na faixa de comprimento de onda de 290 a 320nm, a intervalos de 5nm. Uma equação permite o cálculo do FPS relacionando o efeito erimatogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda (Equação 2) (MANSUR, 1984; SANTOS *et al.*, 1999; FREITAS *et al.*, 2001):

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

EQUAÇÃO 2 – Cálculo do FPS segundo Mansur (MANSUR, 1984)

Onde:

FC = fator de correção (igual a 10)

EE (λ) = efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda λ .

I (λ) = intensidade da luz solar no comprimento de onda λ .

Abs (λ) = leitura espectrofotométrica da absorbância da solução amostra em cada comprimento de onda (λ).

Os valores de EE x I foram determinados por Sayre *et al.* (1979), sendo constantes tabeladas, conforme demonstrado a seguir (Quadro 1):

QUADRO 1 – Valores do efeito eritematogênico e intensidade de radiação na faixa do UVB, normalizados para determinação do FPS por espectrofotometria (SAYRE *et al.*, 1979)

λ (nm)	EE (λ) x I (λ)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
$\Sigma =$	1,0000

Esse método apresenta limitações como não considerar a interação entre a pele e o produto, sofrer interferência de substâncias insolúveis, inclusive filtros físicos, determinação do FPS apenas na região do UVB (LIMA NETO *et al.*, 2010). Entretanto, por sua praticidade e rapidez, o método de Mansur é útil em ensaios preliminares e de desenvolvimento de novos filtros solares, além de análises de controle de qualidade de rotina de formulações (DIFFEY, 1997; MANSUR *et al.*, 1986; RIBEIRO, 2004; SPRINGSTEEN *et al.*, 1999). Diversos trabalhos, além do realizado por Mansur (1984), estabeleceram boa correlação entre os FPS obtidos por esse método e por métodos *in vivo* (VELASCO *et al.* 2011).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo geral estudar o potencial fotoprotetor e antioxidante de extratos de *Mikania glomerata*, *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aquillea millefolium* e *Aesculus hippocastanum* e das substâncias bioativas rutina e vanilina.

3.2. Objetivos Específicos

Avaliar a quantidade de fenólicos totais e flavonóides nos extratos comerciais de *Mikania glomerata*, *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aquillea millefolium* e *Aesculus hippocastanum* e no extrato de *Mikania glomerata* produzido na UFJF;

Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos comerciais de *Mikania glomerata*, *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aquillea millefolium*, *Aesculus hippocastanum*, do extrato de *Mikania glomerata* produzido na UFJF, de rutina e vanilina;

Determinar, através do método proposto por Mansur (1984), o FPS dos extratos comerciais de *Mikania glomerata*, *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aquillea millefolium*, *Aesculus hippocastanum*, do extrato de *Mikania glomerata* UFJF, produzido no Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais da UFJF;

Verificar a sinergia do FPS obtida a partir da associação dos extratos e das substâncias bioativas rutina e vanilina com o filtro químico ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico em formulações gel e emulsão O/A;

Comparar os resultados obtidos nos testes do extrato de *Mikania glomerata* produzido na UFJF em relação ao extrato comercial da mesma planta.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Equipamentos e Vidrarias

- Balança semi-analítica marca Tepron, modelo Mark 500;
- Balança analítica marca Shimadzu, modelo AY-220;
- Espectrofotômetro UV-VIS, marca: Biochrom, modelo Libra S12
- Espectrofotômetro marca Shimadzu, modelo UV-1800;
- Estufa de secagem, marca Quimis, modelo Q317B242
- pHmetro digital marca Hanna, modelo pH21
- Ultrassom marca Unique, modelo Ultracleaner 1400
- Fonte calorífica marca Continental
- Balão volumétrico 50 e 100mL
- Pipeta graduada 1mL, 5mL e 10mL
- Cálice 30mL, 500mL e 1000mL
- Bastão de vidro
- Espátula de aço inox
- Becker de 50 e 100mL
- Tubos de ensaio
- Pipetador automático de 100 μ L e 1000 μ L

4.1.2. Matérias-primas e Reagentes

- Extrato de *Mikania glomerata*, Via Farma, Lote 035775, V. 07/2010;
- Extrato de *Mikania glomerata* UFJF, produzido no Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais da UFJF, Lote 038/10, V. 11/2012 (excicata depositada no Herbário do Departamento de Botânica UFJF sob o número 42054);
- Extrato de *Ginkgo biloba*, All Chemistry, Lote ALL40032, V. 31/08/12;

- Extrato de *Matricaria chamomilla*, All Chemistry, Lote ALL39121, V. 08/04/12;
- Extrato de *Aesculus hippocastanum*, All Chemistry, Lote ALL39933, V. 19/04/12;
- Extrato glicólico de *Achillea millefolium*, All Chemistry, Lote ALL44217, V. 29/07/13;
- Rutina, All Chemistry, Lote ALL36335, V. 07/2012;
- Vanilina, Henrifarma, Lote 1249, V. 10/05/2011;
- 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), Aldrich, Lote S44/12-289;
- Ácido gálico, Vetec, Lote 1004043;
- Reagente de Folin-Ciocalteu, Haloquímica, Lote LIRY10512;
- Ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico (Neo Heliopan Hydro[®]), Symrise Arom, Lote 09110306, V. 27/05/11;
- Hidroxietilcelulose (Natrosol[®]), Purifarma, Lote WH18555654;
- Ácido esteárico, Proquimios, Lote 06/2012;
- Álcool cetoestarálico, All Chemistry, Lote 10745;
- Óleo de girassol, All Chemistry, Lote All 44466;
- Álcool etílico;
- Água destilada;
- Solução de carbonato de sódio 7,5%;
- Ácido acético glacial;
- Solução de piridina:etanol 2:8;
- Solução etanólica de cloreto de alumínio 8%;
- Solução de hidróxido de sódio 1M;
- Solução conservante: metilparabeno (5,2%), propilparabeno (3,2%), propilenoglicol qsp 100%;
- Solução de trietanolamina a 50%.

4.2. Métodos

4.2.1. Testes para Fenóis Totais

A determinação de compostos fenólicos foi realizada segundo método espectrofotométrico com reagente de Folin-Ciocalteu, descrito por Sousa *et al.* (2007), com algumas adaptações, utilizando ácido gálico como padrão de referência. O reagente de Folin-Ciocalteu é uma solução de íons complexos. Esse reagente oxida os fenolatos, reduzindo-os a um complexo azul.

A curva analítica foi construída contendo 1, 2, 3, 4 e 5 µg/mL de ácido gálico, 5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10 (v/v). Após 8 minutos, adicionou-se 4 mL de carbonato de sódio a 7,5%. Passados 60 minutos de repouso ao abrigo da luz, foi feita uma leitura de varredura entre 600 e 950nm da concentração intermediária de ácido gálico – 3 µg/mL – para determinação do comprimento de onda de absorção máxima – 780nm. Como branco foi utilizada solução preparada da mesma forma, substituindo-se o ácido gálico por 1mL de água destilada.

Soluções etanólicas foram preparadas para cada extrato na concentração de 1mg de extrato/mL. De cada uma dessas soluções foi transferido 1mL para tubo de ensaio mais 5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10 (v/v). Após 8 minutos, adicionou-se 4 mL de carbonato de sódio a 7,5% aos tubos. Passados 60 minutos de repouso ao abrigo da luz, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 780nm. Para cada extrato foi preparado um branco seguindo-se o mesmo procedimento, entretanto sem adição do reagente de Folin-Ciocalteu.

Os resultados foram expressos em gramas de EAG (equivalente em ácido gálico)/100mL de extrato e obtidos por regressão linear da curva analítica. Amostras e padrão foram preparados em triplicata.

4.2.2. Testes para Flavonóides Totais

Os teores de flavonóides totais foram determinados através de método espectrofotométrico descrito por Vennat *et al.* (1992) e, posteriormente, por Peixoto Sobrinho *et al.* (2008), com algumas adaptações. Uma solução estoque padrão de rutina foi preparada na concentração de 500µg/mL, em etanol, com sonicação por 5 minutos. Dessa solução foram transferidas alíquotas de 20, 50, 100, 200 e 300µL para tubos de ensaio e a eles adicionados 0,4mL de etanol, 0,12mL de ácido acético glacial, 2mL de solução de piridina:etanol 2:8, 0,5mL de solução etanólica de cloreto de alumínio a 8% e água destilada qsp 5mL. As concentrações finais de rutina são 2, 5, 10, 20 e 30µg/mL. Os brancos foram preparados da mesma maneira, porém sem adição das soluções de piridina e cloreto de alumínio.

Para cada extrato foram preparadas soluções estoque na concentração de 5mg/mL em etanol. Alíquotas de 0,4mL dessas soluções foram transferidas para tubos de ensaio e adicionadas de 0,12mL de ácido acético glacial, 2mL de solução de piridina:etanol 2:8, 0,5mL de solução etanólica de cloreto de alumínio 8% e água destilada qsp 5mL. Um branco foi preparado para cada extrato seguindo o procedimento descrito acima, porém sem adição das soluções de piridina e cloreto de alumínio.

Com exceção do branco, as soluções analíticas foram preparadas em triplicata e as leituras espectrofotométricas realizadas no comprimento de onda de 420nm. A curva de calibração foi construída e seus dados submetidos à análise de regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados, sendo calculada a equação da reta, através da qual se determinou a quantidade de flavonóides, e o coeficiente de determinação (R^2).

4.2.3. Ensaio Antioxidante com DPPH (adaptado)

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada através do método espectrofotométrico segundo Mensor *et al.* (2001) utilizando o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Os extratos comerciais de *Mikania glomerata*, *Ginkgo*

biloba, *Matricaria chamomilla* e *Aesculus hippocastanum* se encontravam na concentração de 50% e o extrato de *Aquillea millefolium* a 20%, segundo laudos analíticos dos fornecedores. O extrato de *M. glomerata* produzido na UFJF apresenta concentração de 100%. Soluções-estoque dos extratos foram preparadas na concentração de 1mg/mL em etanol e posteriormente diluídas com o mesmo solvente para obtenção das concentrações teste, a saber: 100, 200, 500, 700 e 1000µg/mL para *M. glomerata* comercial e UFJF; 25, 50, 150, 100 e 200µg/mL para *A. hippocastanum*; 100, 200, 300, 400 e 500µg/mL para *M. chamomila* e *G. biloba*; 500, 1000, 1500, 2000 e 2500µg/mL para *A. millefolium*. A 2,5mL das soluções-teste dos extratos adicionou-se 1mL de solução 0,03 mM de DPPH. Após 60 minutos de reação, ao abrigo da luz, verificou-se a capacidade dos diversos extratos em reduzir o 2,2-difenil-1-picril hidrazila, que abstrai H• dos extratos – agentes redutores – transformando-se em 2,2-difenil-1-picril hidrazina, com mudança da cor púrpura para amarela. A intensidade de mudança de cor foi detectada através da diminuição da absorbância em espectrofotômetro sob comprimento de onda de 516nm (MENSOR *et al.*, 2001). A vanilina foi testada seguindo o mesmo procedimento, a concentrações de 100, 200, 300, 400, 500 e 1000µg/mL. O controle positivo (padrão) foi feito com solução de rutina nas concentrações de 5, 7,5, 10, 12,5 e 15µg/mL. Todo o teste foi realizado em triplicata. A partir das absorbâncias resultantes determinou-se a atividade antioxidante percentual (%AA) que corresponde à quantidade de DPPH reduzida pelos extratos a partir da seguinte fórmula (Equação 3):

$$\%AA = \frac{100 - \{[Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})] \times 100\}}{Abs_{controle}}$$

EQUAÇÃO 3 – Cálculo da atividade antioxidante percentual adaptado (MENSOR *et al.*, 2001).

Onde:

Abs_{controle} = absorbância de 2,5 mL de etanol + 1 mL da solução de DPPH;

Abs_{amostra} = absorbância de 2,5 mL do extrato + 1 mL da solução de DPPH;

Abs_{branco} = absorbância de 2,5 mL do extrato + 1 mL de etanol.

Após cálculo da atividade antioxidante, a concentração efetiva 50% (CE₅₀) dos extratos e do padrão foi determinada através da análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, obtendo-se a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²). A abscissa do gráfico correspondeu à concentração do extrato testado e a ordenada à porcentagem de atividade antioxidante. Assim, quanto maior a redução do DPPH por uma amostra, menor a concentração efetiva 50% (CE₅₀) e maior sua atividade antioxidante.

4.2.4. Determinação do Fator de Proteção Solar *in vitro*

4.2.4.1. Obtenção do espectro de absorção na região UV

Soluções etanólicas dos extratos a 1mg/mL foram lidas em espectrofotômetro entre 200 e 400nm, a intervalos de 5nm. As absorbâncias obtidas foram plotadas em um gráfico para avaliação da existência de picos de absorção nas diferentes regiões do UV.

4.2.4.2. Determinação de FPS dos Extratos

O procedimento adotado para avaliação do Fator de Proteção Solar dos extratos consistiu em: transferir 0,5mL de amostra para balão volumétrico de 100mL, adicionar etanol qsp 100mL, homogeneizar (1^a diluição). Dessa diluição, transferir alíquota de 4,0mL para balão volumétrico de 100mL, adicionar etanol qsp 100mL, homogeneizar (2^a diluição). Preparar em triplicata. Ler a absorbância da 2^a diluição – concentração de 0,2mg/mL – em espectrofotômetro entre 290 a 320nm, com intervalo de 5nm entre cada leitura, utilizando etanol como branco. As absorbâncias obtidas foram utilizadas no cálculo do FPS médio conforme Equação 4.

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot 2 \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda)$$

EQUAÇÃO 4 – Cálculo do FPS adaptado de Mansur (RIBEIRO, 2004).

4.2.4.3. Determinação de FPS em Formulações de Protetores Solares

4.2.4.3.1. Preparo das Formulações

A formulação utilizada para o gel base foi: 0,6% de hidroxietilcelulose, 3 gotas de solução glicólica contendo conservantes, água destilada qsp 100,0%. A preparação foi feita por dispersão.

A formulação utilizada para a emulsão O/A base foi: 3,0% de ácido esteárico, 1,5% de álcool cetosteárico, 2,5% de óleo de girassol, 1,5% de hidróxido de sódio 1M, 2 gotas de solução glicólica contendo conservantes, água destilada qsp 100,0%. Fase aquosa e fase oleosa foram aquecidas separadamente. Após a fase aquosa atingir 75°C, verteu-se a mesma sobre a fase oleosa fundida, sob agitação constante até temperatura ambiente.

O filtro químico ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico a 5% foi utilizado como padrão de Fator de Proteção Solar. A partir de uma solução estoque do filtro químico a 10% em água destilada, pH 7,29, corrigido com solução de trietanolamina a 50%, foram preparados protetores solares gel e emulsão O/A, em triplicata, como padrão de comparação com as formulações contendo extrato ou as substâncias bioativas (Tabela 1).

As formulações fotoprotetoras foram preparadas na quantidade de 20,0mL cada, por incorporação de solução de filtro químico a 10% associada a extrato, solução estoque de vanilina em etanol (0,2g/mL) ou de rutina em água alcalinizada (0,0135g/mL) à base em quantidade suficiente para perfazer 20mL, com posterior

homogeneização, de modo a se obter vinte formulações diferentes, sendo dez de gel e dez de emulsão O/A, todas contendo 5% de filtro químico associado a 3,5% de extrato p/v, ou a vanilina ou rutina nas concentrações de 0,1% ou 0,25% (Tabela 1).

Os volumes dos extratos adicionados à base variaram de acordo com suas concentrações: *Mikania glomerata*, *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla* e *Aesculus hippocastanum* se encontravam na concentração de 50% e o extrato de *Aquillea millefolium* a 20%, segundo laudos analíticos dos fornecedores. O extrato fluido de *Mikania glomerata* UFJF foi produzido por percolação de 1480g de folhas secas trituradas da planta, coletada no Horto da Faculdade de Farmácia da UFJF, com álcool a 70% v/v, e posterior evaporação em banho-maria a 45°C, de modo a obter um volume final de 1480mL de extrato, a uma concentração teórica de 1g/mL.

TABELA 1 – Composição quali-quantitativa de formulações fotoprotetoras.

Formulações fotoprotetoras	Quantidade de extrato	Quantidade de solução de vanilina a 20%	Quantidade de solução de rutina a 1,35%	Quantidade de solução de filtro químico a 10%	Formulação base (gel ou emulsão)
3,5% <i>G. biloba</i> + 5% filtro químico	1,4mL	-	-	10mL	qsp 20mL
3,5% <i>M. chamomilla</i> + 5% filtro químico	1,4mL	-	-	10mL	qsp 20mL
3,5% <i>A. millefolium</i> + 5% filtro químico	3,5mL	-	-	10mL	qsp 20mL
3,5% <i>A. hippocastanum</i> + 5% filtro químico	1,4mL	-	-	10mL	qsp 20mL
3,5% <i>M. glomerata</i> + 5% filtro químico	1,4mL	-	-	10mL	qsp 20mL
3,5% <i>M. glomerata</i> UFJF + 5% filtro químico	0,7mL	-	-	10mL	qsp 20mL
0,1% Vanilina + 5% filtro químico	-	0,1mL	-	10mL	qsp 20mL
0,25% Vanilina + 5% filtro químico	-	0,25 mL	-	10mL	qsp 20mL
0,1% Rutina + 5% filtro químico	-	-	1,49 mL	10mL	qsp 20mL
0,25% Rutina + 5% filtro químico	-	-	3,7mL	10mL	qsp 20mL
5% filtro químico (padrão)	-	-	-	10mL	qsp 20mL

4.2.4.3.2. Determinação de FPS de Formulações

As formulações preparadas foram tratadas para análise do FPS de conformidade com o descrito no item 4.2.4.2.

4.2.5. Análise Estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm desvio-padrão da média. Os testes de variância (ANOVA) e de Tukey foram utilizados na comparação das médias de fenólicos totais, flavonóides totais e atividade antioxidante, com nível de significância $p < 0,01$; e para FPS do gel e FPS da emulsão O/A a um nível de significância $p < 0,05$. Para comparação entre as médias dos FPS de gel e emulsão O/A contendo a mesma substância teste utilizou-se o teste t de Student, com nível de significância $\alpha = 5\%$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As quantidades de fenólicos e flavonóides totais foram determinadas nos extratos a partir das curvas de calibração do ácido gálico (Figura 7) e da rutina (Figura 8), respectivamente. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

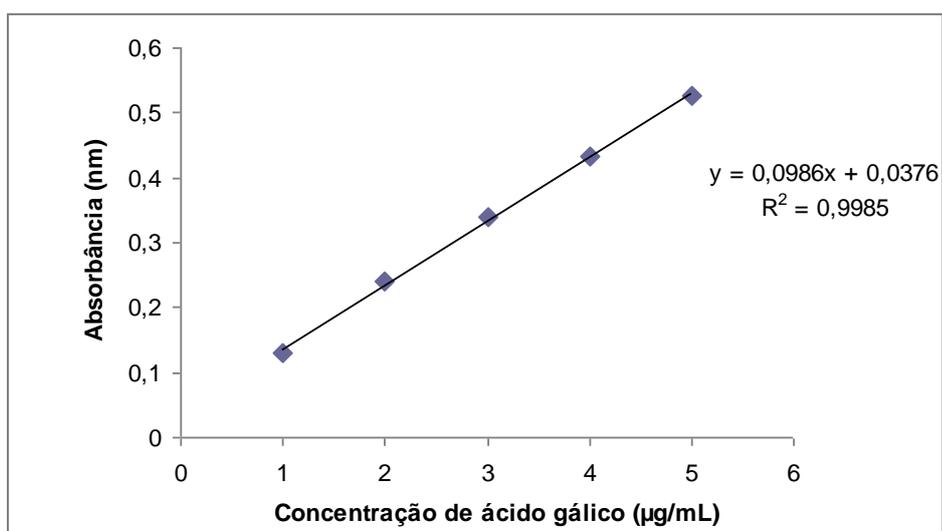


FIGURA 7 – Curva de calibração do ácido gálico para teste de fenóis totais.

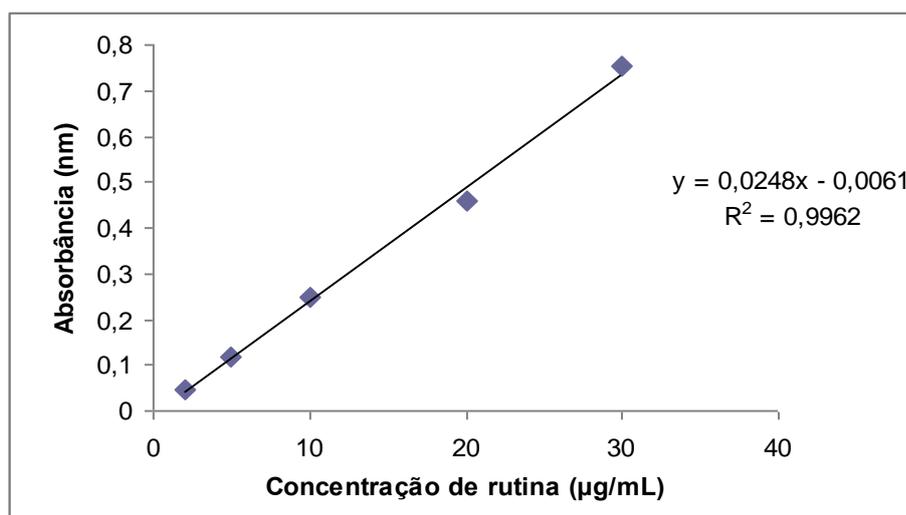


FIGURA 8 – Curva de calibração de rutina para teste de flavonóides totais.

TABELA 2 – Teor de fenólicos e flavonóides totais dos extratos.

Extratos	Fenólicos totais (gEAG/100mL)	Flavonóides totais (mg/100mL)
<i>G. biloba</i>	0,78 ± 0,012 ^a	129,87 ± 14,5 ^a
<i>M. chamomilla</i>	0,82 ± 0,050 ^{ab}	222,23 ± 5,0 ^b
<i>A. hippocastanum</i>	1,52 ± 0,039 ^c	74,43 ± 2,9 ^c
<i>M. glomerata</i>	0,38 ± 0,005 ^d	57,63 ± 5,8 ^{cd}
<i>M. glomerata UFJF</i>	1,00 ± 0,038 ^e	152,22 ± 17,5 ^{ae}
<i>A. millefolium</i>	0,02 ± 0,01 ^f	-

EAG: equivalentes em ácido gálico

Na mesma coluna, letras iguais indicam médias iguais após análise de variância e teste de Tukey a um nível de significância $p < 0,01$.

O extrato com maior teor de fenólicos foi o de *A. hippocastanum* (1,52g/100mL), seguido por *M. glomerata* UFJF (1,00g/100mL) e *G. biloba* e *M. chamomilla*, com valores estatisticamente equivalentes. O conteúdo de fenólicos do extrato comercial de *M. glomerata* foi cerca de 2,6 vezes menor que do extrato produzido na UFJF. O extrato de *A. millefolium* apresentou o menor teor de fenólicos totais (0,02g/100mL), o que pode ser explicado pelo fato de esse ser um extrato glicólico que, segundo o Formulário Nacional (BRASIL, 2005) é rico em frações aromáticas e outros hidrossolúveis, como aminoácidos.

Em relação ao teor de flavonóides totais, as médias variaram de 57,63 a 222,23mg/100mL. O maior resultado foi o de *M. chamomila*, seguido por *M. glomerata* UFJF (152,22mg/100mL) e *G. biloba* (129,87mg/100mL), sendo os dois últimos equivalentes do ponto de vista estatístico. Srivastava e Gupta (2009) demonstraram ser apigenina e seus glicosídeos os principais flavonoides presentes em extratos de camomila. Os menores teores de flavonoides foram obtidos nos extratos de *A. hippocastanum* (74,43mg/100mL) e *M. glomerata* (57,63mg/100mL), cujas médias foram estatisticamente iguais. Observa-se que o extrato comercial de *M. glomerata* apresentou resultado de flavonoide cerca de 2,6 vezes inferior ao extrato UFJF, mantendo-se a mesma relação do teor de fenólicos. O extrato de *A. millefolium* não apresentou teores de flavonóides totais quantificáveis nas

concentrações testadas, indicando que a pequena quantidade de fenóis detectada refere-se a outros compostos que não flavonóides. Não foi possível observar correlação entre fenóis e flavonóides totais. Estudos realizados por Miliauskas, Venskutonis e Beek (2004), utilizando plantas medicinais e aromáticas, e por Meda *et al.* (2005), utilizando mel proveniente de flores de diferentes espécies, obtiveram reduzida correlação entre fenóis e flavonóides, com coeficientes de correlação iguais a 0,43 e 0,11, respectivamente.

A atividade antioxidante variou entre os extratos. As CE_{50} obtidas estão na Tabela 3.

TABELA 3 – Atividade antioxidante dos extratos, vanilina e rutina.

Extratos	Atividade antioxidante CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>G. biloba</i>	$274,9 \pm 3,7^a$
<i>M. chamomilla</i>	$246,2 \pm 36,7^{ab}$
<i>A. hippocastanum</i>	$86,6 \pm 10,4^c$
<i>M. glomerata</i>	$406,6 \pm 22,5^d$
<i>M. glomerata UFJF</i>	$532,3 \pm 54,0^e$
<i>A. millefolium</i>	-
Vanilina	-
Rutina	$10,0 \pm 0,8^{cf}$

CE_{50} é a concentração de extrato, em $\mu\text{g/mL}$, capaz de estabilizar 50% do radical DPPH.

Na mesma coluna, letras iguais indicam médias iguais, após análise de variância e teste de Tukey, a um nível de significância $p < 0,01$.

As menores atividades antioxidantes deveram-se aos extratos de *M. glomerata* UFJF e comercial. Os extratos de *G. biloba* ($CE_{50} = 274,9\mu\text{g/mL}$) e *M. chamomilla* ($CE_{50} = 246,2\mu\text{g/mL}$) apresentaram atividades antioxidantes intermediárias e estatisticamente equivalentes. O extrato de *A. hippocastanum* mostrou-se o mais potente antioxidante do grupo testado, com $CE_{50} = 86,6 \mu\text{g/mL}$, estatisticamente comparável a do padrão rutina. O extrato de *A. millefolium* apresentou atividade antioxidante de 35,2% a concentração de 2500 $\mu\text{g/mL}$, como essa concentração é muito acima da CE_{50} apresentada pelos demais extratos e também pela rutina ($10,0 \pm 0,8\mu\text{g/mL}$), considerou-se o mesmo como não tendo

atividade antioxidante significativa frente ao radical DPPH. A vanilina não apresentou atividade antioxidante nas concentrações testadas, resultado concordante com estudo realizado por Tai *et al.* (2011), que comprovou atividade antioxidante da vanilina frente ao radical ABTS e pelos métodos da inibição da hemólise oxidativa e da capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC), entretanto nenhuma atividade antioxidante foi demonstrada frente aos radicais DPPH e galvinoxil.

A partir dos resultados acima, foi possível estabelecer uma forte correlação entre a CE_{50} obtida na atividade antioxidante e o conteúdo de fenóis totais dos extratos de *A. hippocastanum*, *M. chamomilla*, *G. biloba* e *M. glomerata* comercial (Figura 9). A inclinação negativa demonstra que, como esperado, quanto maior o conteúdo de fenólicos, menor a CE_{50} do extrato, indicando maior atividade antioxidante. O extrato de *M. glomerata* UFJF não foi incluído na avaliação de correlação por ter apresentado valor discrepante. Diversos trabalhos comprovam a correlação entre fenóis totais e atividade antioxidante de plantas (GHAFAR *et al.*, 2010; MAIER *et al.*, 2009; MOIRANGTHEM *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2007).

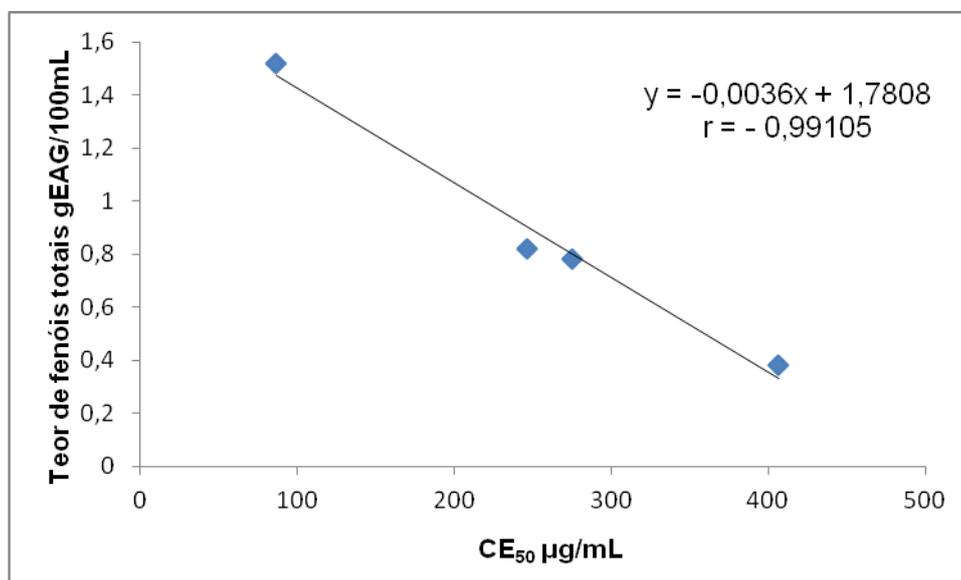


FIGURA 9 – Correlação entre a atividade antioxidante e o teor de fenóis totais dos extratos.

A observação dos espectros de absorção dos extratos entre 200 e 400nm mostra que os picos de absorbância máximos encontram-se na região do UVC (200-

290nm). Na região do UVB (290-320nm) a maior absorbância foi demonstrada pelo extrato de *M. glomerata* UFJF, seguido por *M. chamomilla* e *A. hippocastanum*. Esse perfil se estende para a região UVA (320-400nm), exceto para o extrato de *A. hippocastanum*, que não absorve nessa região. (Figura 10)

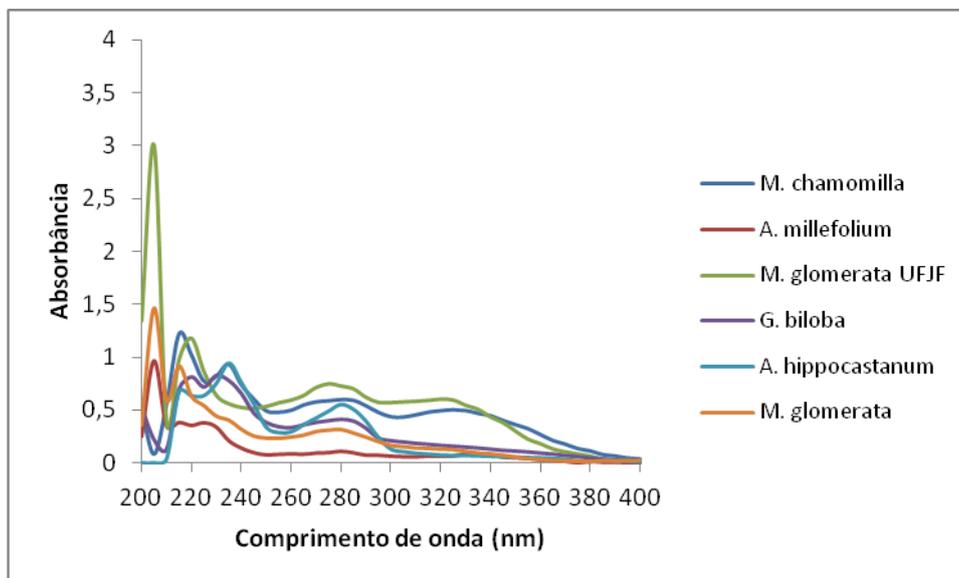


FIGURA 10 – Espectros de absorção dos extratos na região do UV.

Os valores de FPS dos extratos isolados variaram desde 0,15 para *G. biloba* a 2,72 para o extrato de *M. glomerata* UFJF (Figura 11). As baixas concentrações em que são comercializados pode ser uma razão para os reduzidos valores de FPS obtidos.

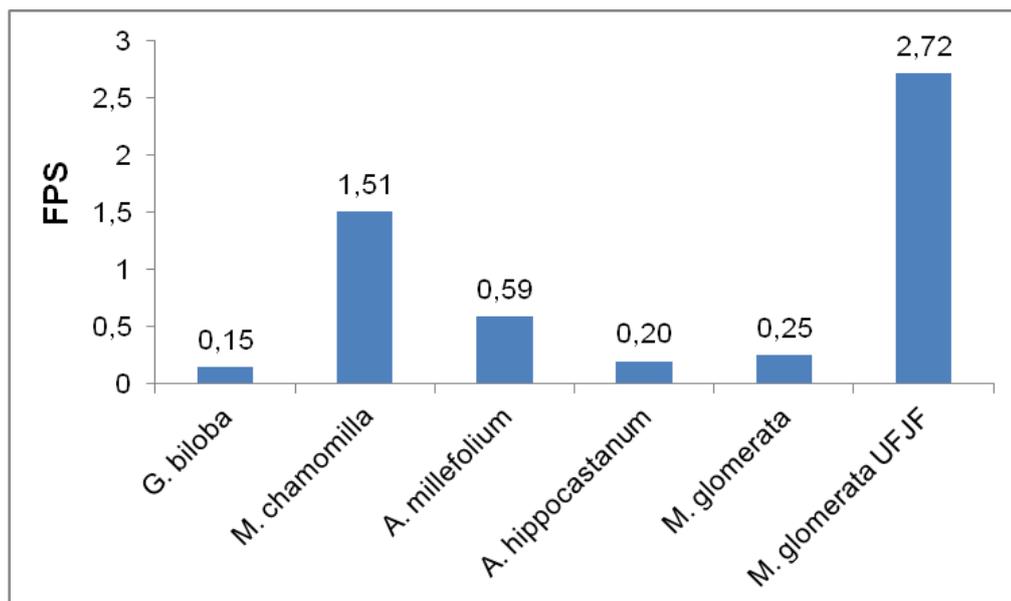


FIGURA 11 – Valores de FPS fornecidos pelos espectros de absorção na região UVB.

O maior valor de FPS foi obtido para o extrato de *M. glomerata* produzido na UFJF, que possui concentração de 100% (1 g substância seca/mL). Em comparação com o extrato comercial da mesma espécie, seu valor de FPS é quase 11 vezes maior, contrariando o esperado pela proporcionalidade das concentrações. Essa diferença nos valores de FPS pode justificar-se pela concentração dos mesmos, o processo extrativo utilizado e a concentração do solvente extrator, que interferem nos teores de metabólitos especiais obtidos (ABOY *et al.*, 2002). Os teores de compostos fenólicos e flavonóides encontrados fundamenta essa hipótese.

Dentre os extratos comerciais, o maior valor de FPS foi fornecido por *M. chamomilla*, que apresentou também o maior teor de flavonóides. O menor FPS foi o do extrato de *G. biloba*. Apesar dos compostos fenólicos e flavonóides estarem relacionados à fotoproteção (AGATI & TATTINI, 2010; NICHOLS & KATIYAR, 2010; REUTER *et al.*, 2010), não foi possível estabelecer correlação entre seus conteúdos nos extratos e os valores de FPS obtidos.

A associação de extratos vegetais e óleos vegetais a filtros químicos tem sido considerada uma opção viável para aumentar o valor de FPS de protetores solares (FERRARI *et al.*, 2007; MISHRA, MISHRA & CHATTOPADHYAY, 2012; RAMOS *et*

al., 1996; ROSA *et al.*, 2008; VIOLANTE *et al.*, 2009). O ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico é um filtro químico com elevada absorção na região do UVB, que forma sais hidrossolúveis após neutralização com trietanolamina ou hidróxido de sódio. Conforme indicação do fabricante, uma concentração de 4% de ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico resultaria em um FPS aproximado de 10, porém é adequado que seja associado a outros filtros solares para ampliação do FPS da formulação (SYMRISE, 2011). As concentrações de uso variam de acordo com as legislações de cada país, no Brasil o máximo permitido é de 8% (BRASIL, 2006).

Formulações em gel e emulsão O/A foram preparadas associando-se extrato, rutina ou vanilina a 5% de ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico. Optou-se pela concentração de 3,5% de extrato nas formulações para que fossem mantidas características físicas adequadas, independente da concentração do extrato de origem. A concentração inicial de rutina (0,1%) foi baseada em trabalho anterior (VELASCO *et al.*, 2008a) e adotada como ponto de partida também para a vanilina para facilitar comparação entre elas.

Os protetores solares em gel contendo os extratos apresentaram sinergismo positivo com o filtro químico a 5% em relação à capacidade fotoprotetora, exceto pelo gel contendo extrato de *M. chamomilla* que não demonstrou elevação do FPS quando comparado ao padrão. A associação de rutina e vanilina também produziu elevação do FPS do gel padrão, sendo que os géis contendo rutina apresentaram valores de FPS maiores que os formulados com vanilina (Figura 12).

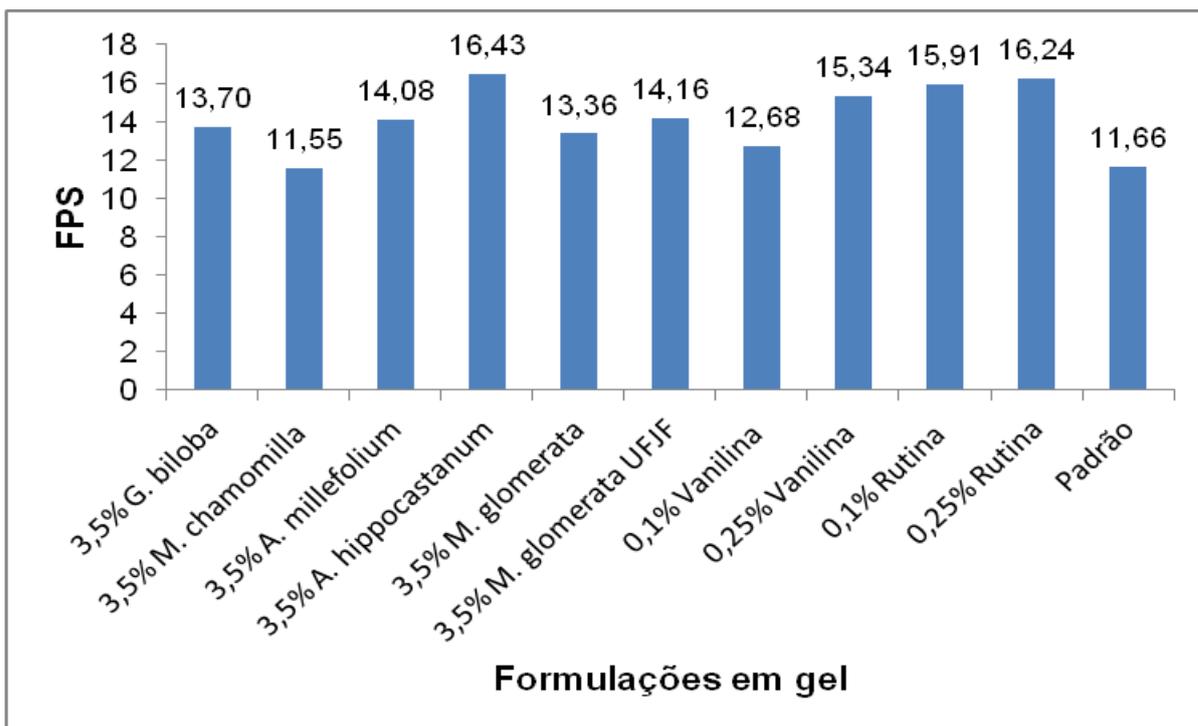


FIGURA 12 – Valores de FPS para protetores solares em gel.

O gel que apresentou maior FPS foi aquele formulado com extrato de *A. hippocastanum*. Apesar das propriedades de absorção na região UVB e o FPS desse extrato não serem significativas quando avaliado isoladamente, após associação com filtro químico podem ter havido interações que atuaram sinergicamente na elevação do FPS da formulação. Esses resultados são condizentes com trabalho anterior realizado por Ramos *et al.* (1996), onde solução a 10% do extrato seco de *A. hippocastanum* apresentou FPS igual a 0 e, após associação com 2% do filtro químico octilmetoxicinamato, produziu elevação do FPS de 4 (filtro químico isolado) para 6. A atividade sinérgica do extrato de *A. hippocastanum* pode estar relacionada a seu conteúdo de compostos fenólicos e sua atividade antioxidante mais elevada em relação aos demais extratos avaliados, conforme dados das Tabelas 2 e 3. Dentre os compostos fenólicos descritos para essa espécie destacam-se os flavonóides derivados de quercetina e kaempferol e cumarinas (esculetol) (KÜÇÜKKURT *et al.*, 2010).

Em relação ao extrato de *M. glomerata* UFJF, nota-se que isoladamente seu FPS foi de 2,72, o maior valor entre os extratos avaliados. Após associação com filtro químico no gel ele promoveu a segunda maior elevação do FPS, quando comparado aos demais extratos. Conforme descrito anteriormente, compostos fenólicos estão relacionados à atividade fotoprotetora. A quantidade de fenóis totais do extrato é a segunda maior, estando abaixo apenas do extrato de *A. hippocastanum*. Os principais compostos fenólicos do guaco são a cumarina, derivados de ácidos cinâmicos e flavonóides (GASPARETTO *et al.*, 2010).

O aumento do FPS produzido pelos extratos nas formulações de protetores solares em emulsão O/A foi discreto, sendo a maior contribuição proporcionada pelo extrato de *A. millefolium*. A rutina 0,25% produziu o maior FPS na emulsão (17,69), uma elevação de 3,86 no FPS em relação ao padrão. Nas emulsões contendo extrato de *G. biloba* e extrato *M. chamomilla* não houve sinergismo positivo (Figura 13).

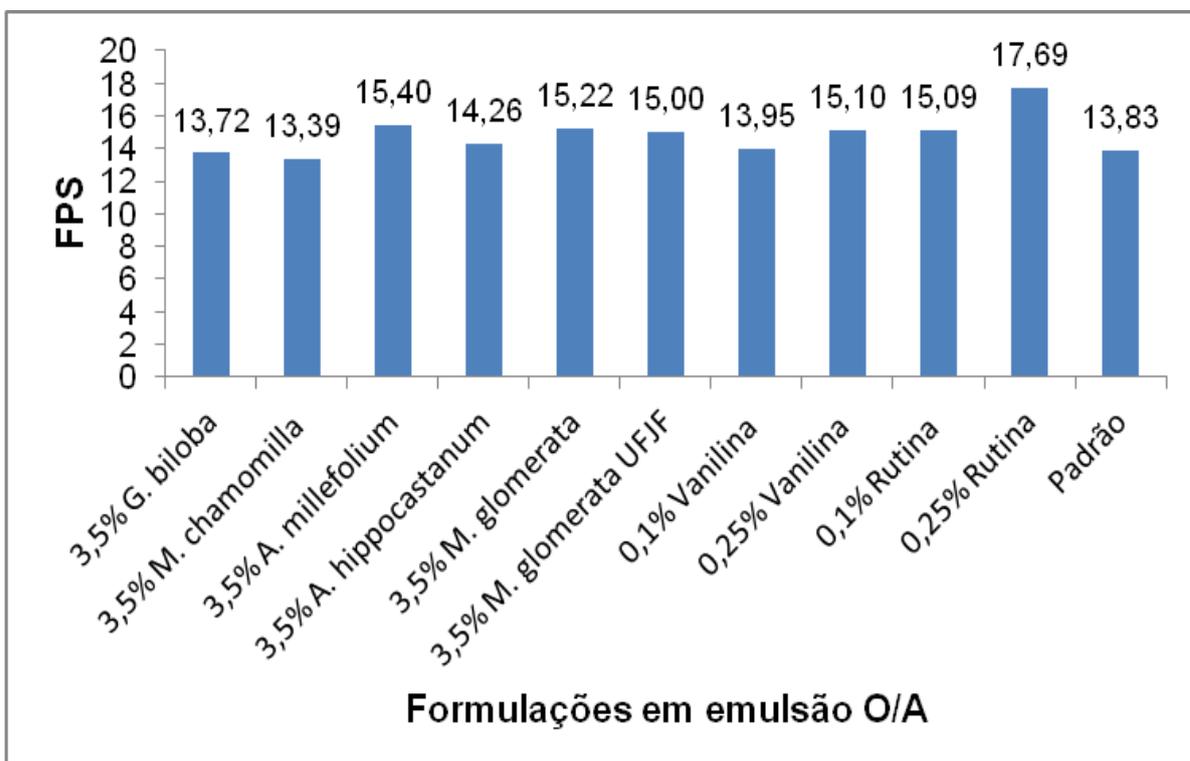


FIGURA 13 – Valores de FPS para os protetores solares em emulsão O/A.

A análise estatística dos valores de FPS obtidos para as formulações em gel e emulsão está na Tabela 4. Os resultados demonstram que, para as formulações em gel, os extratos de *M. chamomilla* e *M. glomerata* e a vanilina 0,1% não produziram sinergismo significativo com o filtro químico. O gel contendo extrato de *A. hippocastanum* apresentou o maior FPS, equivalente em média aos géis contendo vanilina 0,25% e rutina 0,1% e 0,25%, estatisticamente diferente do padrão. No caso de formulações em emulsão, as contribuições ao FPS dos extratos de *G. biloba*, *M. chamomilla*, *A. hippocastanum* e de vanilina 0,1% não foram significativas. Dentre os extratos, *A. millefolium* (15,40), *M. glomerata* comercial (15,22) e *M. glomerata* UFJF (15,00) apresentaram as maiores contribuições, equivalentes entre si e com as emulsões contendo vanilina 0,25% e rutina 0,1%. O maior FPS foi obtido na emulsão contendo rutina 0,25% (17,69). Após comparação entre os FPS de gel e emulsão, observa-se que os resultados da emulsão foram aparentemente maiores, entretanto gel e emulsão contendo *G. biloba*, vanilina 0,1% e 0,25%, e rutina 0,1% apresentaram FPS equivalentes do ponto de vista estatístico.

TABELA 4 – Análise estatística dos valores de FPS encontrados nas formulações em gel e emulsão O/A.

Formulações	Fator de Proteção Solar	
	Gel	Emulsão O/A
3,5% <i>G. biloba</i>	13,70 ± 0,45 ^{aA}	13,72 ± 0,07 ^{aA}
3,5% <i>M. chamomilla</i>	11,55 ± 0,35 ^{bA}	13,39 ± 0,14 ^{abB}
3,5% <i>A. hippocastanum</i>	16,43 ± 0,39 ^{cA}	14,26 ± 0,02 ^{abcB}
3,5% <i>M. glomerata</i>	13,36 ± 0,37 ^{adA}	15,22 ± 0,36 ^{cdB}
3,5% <i>M. glomerata</i> UFJF	14,16 ± 0,17 ^{adeA}	15,00 ± 0,32 ^{cdeB}
3,5% <i>A. millefolium</i>	14,08 ± 0,39 ^{adeA}	15,40 ± 0,17 ^{defB}
0,1% vanilina	12,68 ± 1,23 ^{abdefgA}	13,95 ± 0,99 ^{abcegA}
0,25% vanilina	15,34 ± 0,35 ^{cefhA}	15,10 ± 0,21 ^{cdefhA}
0,1% rutina	15,91 ± 0,55 ^{chiA}	15,09 ± 0,30 ^{cdefhiA}
0,25% rutina	16,24 ± 0,56 ^{chijA}	17,69 ± 0,26 ^{jB}
5% filtro químico padrão	11,66 ± 0,41 ^{bdgkA}	13,83 ± 0,01 ^{abcgkB}

Na mesma coluna, letras minúsculas iguais indicam médias iguais, após análise de variância ANOVA seguida de teste de Tukey, a um nível de significância $p < 0,05$.

Na mesma linha, letras maiúsculas iguais indicam médias iguais, após teste *t* de Student, a um nível de significância $\alpha = 0,05$, com 4 graus de liberdade.

De um modo geral, os extratos avaliados contribuíram para a elevação do FPS de protetores solares quando associados a 5% de filtro químico (Tabela 5). Trabalhos realizados por Ramos *et al.* (1996), Tabrizi, Mortazavi e Kamalinejad (2003), Khazaeli e Mehrabani (2007), Rosa *et al.* (2008), Kaur e Saraf (2011) demonstraram a capacidade de alguns extratos de plantas de ampliar o FPS de formulações fotoprotetoras, corroborando os resultados obtidos nesse estudo. As exceções são o extrato de *M. chamomilla*, que não produziu elevação do FPS de gel e emulsão, e o extrato de *G. biloba* que não produziu elevação do FPS da emulsão. Apesar disso, Freitas (2011) e Chanchal e Swarnlata (2009) relataram que formulações fotoprotetoras contendo extrato de camomila e ginkgo, respectivamente, protegem a pele de efeitos nocivos da radiação solar, como a inflamação e a carcinogênese, o que demonstra que a associação de extratos a protetores solares podem ser vantajosas devido a suas propriedades antioxidantes e antiinflamatórias.

Avaliando-se a contribuição percentual dos extratos de *M. glomerata* comercial e UFJF ao FPS das formulações (Tabela 5) nota-se que os resultados não refletem a diferença proporcional de suas concentrações; no gel o extrato UFJF apresentou contribuição 50% maior que o comercial; na emulsão a contribuição do extrato comercial (10,0%) foi levemente maior que do extrato UFJF (8,4%). Apesar dessas diferenças, a análise estatística demonstrou que as médias dos FPS das formulações em gel e emulsão O/A contendo esses extratos são equivalentes (Tabela 4).

A rutina promoveu elevação do FPS de protetores solares, mesmo na concentração mínima testada (0,1%), resultado esse condizente com o obtido por Velasco *et al.* (2008a, 2008b). Na concentração de 0,25% de rutina, foi obtida a maior contribuição ao FPS da emulsão. A vanilina apresenta propriedades antioxidantes que auxiliam na inibição da carcinogênese induzida por radiação UV (LEY & REEVE, 1997). Nesse estudo, sua inclusão em formulações fotoprotetoras ampliou o FPS, principalmente no gel a concentração de 0,25% (Tabela 5).

TABELA 5 – Elevação % do FPS das formulações em relação ao FPS da formulação padrão.

Formulações	Elevação % do FPS em relação ao padrão	
	Gel	Emulsão O/A
3,5% <i>G. biloba</i>	17,5	-
3,5% <i>M. chamomilla</i>	-	-
3,5% <i>A. hippocastanum</i>	41,2	3,1
3,5% <i>M. glomerata</i>	14,6	10,0
3,5% <i>M. glomerata UFJF</i>	21,4	8,4
3,5% <i>A. millefolium</i>	20,8	11,3
0,1% vanilina	8,7	0,9
0,25% vanilina	31,6	9,2
0,1% rutina	36,4	9,1
0,25% rutina	39,3	27,9

As maiores contribuições para o FPS de géis foram obtidas pela associação do extrato de *A. hippocastanum* (41,2%), vanilina 0,25% (31,6%), rutina 0,1% e 0,25% (36,4% e 39,3%, respectivamente), todas com médias equivalentes e significância estatística. No caso de emulsões, a associação do extrato de *A. millefolium* ao filtro químico promoveu aumento de 11,3% no FPS, contribuição estatisticamente equivalente a dos extratos comercial e UFJF de *M. glomerata*, enquanto a rutina 0,25% elevou o FPS em 27,9% (Tabelas 4 e 5).

Dentre os extratos avaliados, o de *A. hippocastanum* mostra-se uma opção promissora a ser utilizada em protetores solares pois, além de aumentar o FPS do gel de 11,66 (padrão) para 16,43 (Tabela 4), possui elevada capacidade antioxidante, comparável a rutina, utilizada como padrão (Tabela 3). Estudos recentes ressaltam as vantagens da utilização de substâncias antioxidantes de origem vegetal em formulações fotoprotetoras como auxiliares na redução dos efeitos nocivos dos EROs sobre a pele (CHEN, HU & WANG, 2012; FISCHER *et al.*, 2011; GILABERTE & GONZÁLES, 2010; NICHOLS & KATIYAR, 2010).

6. CONCLUSÕES

Os resultados do trabalho permitem concluir que:

- Os extratos de *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aesculus hippocastanum*, *Aquillea millefolium*, *Mikania glomerata* comercial e *Mikania glomerata* UFJF possuem compostos fenólicos e flavonóides em diferentes concentrações, sendo o maior conteúdo de fenólicos do extrato de *A. hippocastanum* e de flavonóides do extrato de *M. chamomilla*;

- O extrato de *M. glomerata* UFJF apresentou teores de fenólicos e flavonóides cerca de 2,6 vezes superiores ao extrato *M. glomerata* comercial. Não pode ser observada a mesma relação proporcional da concentração, já que o extrato UFJF tem o dobro da concentração do extrato comercial;

- Os extratos de *Ginkgo biloba*, *Matricaria chamomilla*, *Aesculus hippocastanum*, *Mikania glomerata* e *Mikania glomerata* UFJF possuem atividade antioxidante frente ao radical DPPH, sendo do extrato de *A. hippocastanum* o maior potencial antioxidante dentre os todos testados, equivalente ao padrão rutina. O extrato de *M. glomerata* UFJF mostrou atividade antioxidante estatisticamente equivalente ao extrato *M. glomerata* comercial. O extrato de *A. millefolium* não apresentou atividade antioxidante frente ao radical DPPH, bem como a vanilina;

- Os extratos isolados apresentaram diferentes perfis de absorção UV, sendo de *M. glomerata* UFJF e *M. chamomilla* as maiores absorções UVA e UVB e, conseqüentemente, os maiores valores de FPS UVB. O extrato de *M. glomerata* UFJF possui FPS cerca de 11 vezes maior que o extrato comercial. O valores de FPS obtidos para os extratos isolados não se reproduzem nas formulações em gel e emulsão O/A;

- Os extratos de *Ginkgo biloba*, *Aesculus hippocastanum*, *Aquillea millefolium*, *Mikania glomerata* e *Mikania glomerata* UFJF apresentaram diferentes graus de sinergismo com o filtro químico no gel. O extrato de *Matricaria chamomilla* não produziu aumento no FPS do gel. Dentre os extratos, a maior contribuição ao

FPS foi obtida pela associação de *A. hippocastanum* com o filtro químico (41,2%). Os géis contendo extratos de *M. glomerata* comercial e UFJF apresentaram FPS equivalentes;

- Os extratos avaliados apresentaram sinergismo com o filtro químico no FPS da formulação em emulsão O/A, exceto *G. biloba* e *M. chamomilla*, que não produziram aumento no FPS. Os extratos de *M. glomerata* comercial e UFJF e *A. millefolium* apresentaram contribuições equivalentes ao FPS da emulsão;

- Vanilina e rutina apresentaram sinergismo com o filtro químico em formulações em gel e em emulsão O/A nas concentrações de 0,1% e 0,25%. A rutina a 0,25% produziu maior elevação do FPS da emulsão O/A (27,9%);

- O extrato de *A. hippocastanum* possui o maior potencial fotoprotetor, pois aumentou significativamente o FPS da formulação em gel e apresentou elevada atividade antioxidante. Face ao melhor desempenho o extrato apresenta potencialidades promissoras como adjuvante nas formulações de fotoprotetores.

7. REFERÊNCIAS

ABDEL-RAHEEM, I. T. Gastroprotective effect of rutin against indomethacin-induced ulcers in rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, Odense, v. 107, p. 742–750, 2010.

ABOY, A. L. *et al.* Atividade antiespasmódica de soluções extrativas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco). **Acta Farm. Bonaerense**, Buenos Aires, v. 21, n. 3, p. 185-191, 2002.

ADHAMI, V. M. *et al.* Phytochemicals for prevention of solar ultraviolet radiation-induced damages. **Photochemistry and Photobiology**, Washington, v. 84, n. 2, p. 489–500, 2008.

AFAQ, F. Natural agents: cellular and molecular mechanisms of photoprotection. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Diego, v. 508, n. 2, p. 144–151, 2011.

AGATI, G.; TATTINI, M. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. **New Phytologist**, London, v. 186, n. 4, p. 786–793, 2010.

ALVARENGA, F. C. R. *et al.* Avaliação da qualidade de amostras comerciais de folhas e tinturas de guaco. **Rev. Bras. Farmacogn.**, Curitiba, v. 19, n. 2A, p. 442-448, 2009.

ALVES, L. M., AEGERTER, M. A.; HATA, K. M. Determinação *in vitro* de fator de proteção solar (FPS) de moderadores solares. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 6, p. 313-319, 1991.

AMARAL, R. R. *et al.* Avaliação da atividade IMAO e antibacteriana de extratos de *Mikania glomerata* Sprengel. **Rev Bras Farmacogn**, Curitiba, v. 13, s. 1, p. 24-27, 2003.

APPLEQUIST, W. L.; MOERMAN, D. E. Yarrow (*Aquilegia millefolium* L.): neglected panacea? A review of ethnobotany, bioactivity, and biomedical research. **Economic Botany**, New York, v. 65, n. 2, p. 209–225, 2011.

ARAÚJO, T. S. de; SOUZA, S. O. de. Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 4, n.11, p. 1-7, 2008.

AVENEL-AUDRAN, M. Sunscreen products: finding the allergen... **Eur J Dermatol**, Montrouge, v. 20, n. 2, p. 161-166, 2010.

AZULAY, R. D. **Dermatologia**. 5 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1022 p.

- BASTIEN, N. *et al.* The sunscreen agent 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid photosensitizes the formation of oxidized guanines in cellulose after UV-A or UV-B exposure. **Journal of Investigative Dermatology**, Chapel Hill, v. 130, p. 2463-2471, 2010.
- BECHO, J. R. M.; MACHADO, H.; GUERRA, M. de O. Rutina – estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, Juiz de Fora, v. 1, n. 1, p. 21-25, 2009.
- BEDRIKOW, R. B. **Esclerodermia cutânea**: avaliação da resposta terapêutica a fototerapia. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- BEEK, T. A. van; MONTORO, P. Chemical analysis and quality control of *Ginkgo biloba* leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. **Journal of Chromatography A**, New York, v. 1216, p. 2002–2032, 2009.
- BENEDEK, B.; KOPP, B. *Achillea millefolium* L. s. l. revisited: recent findings confirm the traditional use. **Wien Med Wochenschr**, Viena, v. 157, n. 13-14, p. 312-314, 2007.
- BERG-SCHULTZ, K. *et al.* Formulating high SPF sun care products with a liquid-mineral UV filter. **SÖFW-Journal**, Augsburg, v.131, p. 1-8, 2005.
- BHASKARAN, N. *et al.* Chamomile, an anti-inflammatory agent inhibits inducible nitric oxide synthase expression by blocking RelA/p65 activity. **Int J Mol Med.**, Heraklion, v. 26, n. 6, p. 935–940, 2010.
- BIESEMEIER, A. *et al.* The classical pathway of melanogenesis is not essential for melanin synthesis in the adult retinal pigment epithelium. **Cell Tissue Res**, New York, v. 339, p. 551-560, 2010.
- BILIA, A. R. *Ginkgo biloba* L. **Fitoterapia**, New York, v. 73, p. 276-279, 2002.
- BONINA, F. *et al.* Flavonoids as potential protective agent against photo-oxidative skin damage. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 145, n. 1-2, p. 87-94, 1996.
- BOUWSTRA, J. A. *et al.* Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. **Progress in Lipid Research**, Amsterdam, v. 42, n. 1, p. 1–36, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 174p.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 47, de 16 de março de 2006. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 mar. 2006, Seção 1, p. 60.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 56, de 09 de novembro de 2009. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 nov. 2009, Seção 1, p. 43.

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta de Produtos. Medicamentos, Brasília, DF. Disponível em: http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/consulta_produto/rconsulta_produto_detalhe.asp. Acesso em: 14 de fev. 2012a.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 30, de 01 de junho de 2012b. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 04 jun. 2012, Seção 1, p. 83.
- BRENNER, M.; HEARING, V. J. The protective role of melanin against UV damage in human skin. **Photochemistry and Photobiology**, Washington, v. 84, n. 3, p. 539-549, 2008.
- BUCHALSKA, M. *et al.* Singlet oxygen generation in the presence of titanium dioxide materials used as sunscreens in suntan lotions. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, New York, v. 213, n. 2-3, p. 158–163, 2010.
- BURLANDO, B. *et al.* **Herbal Principles in Cosmetics: properties and mechanisms of action**. New York: CRC Press, 2010, 460 p.
- BURNETT, M. E.; WANG, S. Q. Current sunscreen controversies: a critical review. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, Copenhagen, v. 27, n. 2, 58–67, 2011.
- CABRAL, L. M.; SANTOS, T. C.; ALHAIQUE, F. Development of a profitable procedure for the extraction of 2-H-benzopyran-2-one (coumarin) from *Mikania glomerata*. **Drug Dev Ind Pharm**, London, v. 27, n. 1, p. 103-106, 2001.
- CAROLLO, C. A. **Análise fitoquímica e avaliação dos efeitos dos tipos de adubação, radiação solar e do estresse hídrico, no acúmulo de metabólitos secundários em espécies do gênero Mikania**. 2008. 228 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2008.
- CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. Extraction and quantitative HPLC analysis of coumarin in hydroalcoholic extracts of *Mikania glomerata* Spreng. (“guaco”) leaves. **J. Braz. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 12, n. 6, p. 706-709, 2001.
- CHANCHAL, D.; SWARNLATA, S. Herbal photoprotective formulations and their evaluation. **The Open Natural Products Journal**, v. 2, p. 71-76, 2009.
- CHANDA, S.; BARAVALIA, Y. Novel leads from herbal drugs for infectious skin diseases. **Current Research, Technology and Education Topics an Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, Badajoz: Formatex Research Center, Microbiology Book Series, v. 1, n. 2, 2010.
- CHATELAIN, E.; GABARD, B. Photostabilization of butyl methoxydibenzoylmethane (avobenzone) and ethylhexyl methoxycinnamate by bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine (Tinosorb S), a new UV broadband filter. **Photochemistry and Photobiology**, Washington, v. 74, n. 3, p. 401–406, 2001.

- CHEN, L. C.; HU, J. Y.; WANG, S. Q. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. **J Am Acad Dermatol**, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.031>>. Acesso em: 15 mar. 2012.
- CHRÉTIEN, M. N.; HEAFEY, E.; SCAIANO, J. C. Reducing adverse effects from UV sunscreens by zeolite encapsulation: comparison of oxybenzone in solution and in zeolites. **Photochemistry and Photobiology**, Washington, v. 86, n. 1, p. 153–161, 2010.
- COLDIRON, B. M. The UV index: a weather report for skin. **Clinics in Dermatology**. New York, n. 16, p. 441–446, 1998.
- COLIPA. International sun protection factor (SPF) test method, **COLIPA Guidelines**, Brussels, p. 1-46, May, 2006.
- CHOQUENET, B. *et al.* Quercetin and rutin as potential sunscreen agents: determination of efficacy by an *in vitro* method. **J. Nat. Prod.**, Washington, v. 71, p. 1117–1118, 2008.
- DAUGSCH, A.; PASTORE, G. Obtenção de vanilina: oportunidade biotecnológica. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 642-645, 2005.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. 2. ed., West Sussex: John Wiley and Sons Ltd, 2002, 515 p.
- DÍAZ-CRUZ, M. S.; LLORCA, M.; BARCELÓ, D. Organic UV filters and their photodegradates, metabolites and disinfection by-products in the aquatic environment. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 27, n. 10, p. 873-887, 2008.
- DIFFEY, B. L. Indices of protection from *in vitro* assay of sunscreens. In: LOWE, N.J.; SHAATH, M.A.; PATHAK, M.A. **Sunscreens Development, Evaluation, and Regulatory Aspects**. New York: Marcel Dekker, p. 589-600, 1997.
- DUARTE, I.; BUENSE, R.; KOBATA, C. Fototerapia. **An Bras Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 1, p. 74-82, 2006.
- DURANT, S.; KARRAN, P. Vanillins – a novel family of DNA-PK inhibitors. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 31, n. 19, p. 5501-5512, 2003.
- DUTRA, E. A. *et al.* Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 381-385, 2004.
- EDREVA, A. *et al.* Stress protective role of secondary metabolites: diversity of function and mechanisms. **Gen. Appl. Plant Physiology**, Sofia, v. 34, n. 1-2, p. 67-78, 2008.
- ELIAS, P. M. The skin barrier as an innate immune element. **Semin Immunopathol.**, Dordrecht, v. 29, n. 1, p. 3–14, 2007.

ELLER, M. S.; ASARCH, A.; GILCHREST, B. A. Photoprotection in human skin – a multifaceted SOS response. **Photochemistry and Photobiology**, Washington, v. 84, n. 2, p. 339–349, 2008.

ERNFORS, P. Cellular origin and developmental mechanisms during the formation of skin melanocytes. **Experimental cell research**, New York, v. 316, n. 8, p. 1397-1407, 2010.

FEINGOLD, K. R. The outer frontier: the importance of lipid metabolism in the skin. **Journal of Lipid Research**, Rockville, v. 50, supplement, p. s417-s422, 2009.

FERRARI, M. *et al.* Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). **Rev. Bras. Farmacogn.**, Curitiba, v. 17, n. 4, p. 626-630, 2007.

FIGUEROA-ESPINOZA, M-C.; VILLENEUVE, P. Phenolic acids enzymatic lipophilization. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 53, n. 8, p. 2779-2787, 2005.

FIGUEIREDO, L. C. *et al.* Câncer de pele: estudo dos principais marcadores moleculares do melanoma cutâneo. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 49, n. 3, p. 179-183, 2003.

FISCHER, F. *et al.* UV-ABC screens of luteolin derivatives compared to edelweiss extract. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 103, n. 1, p. 8–15, 2011.

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

FONSECA, Y. M. **Avaliação da atividade fotoquimiopreventiva do extrato de calêndula**. 2010. 165f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

FORESTIER, S. Rationale for sunscreen development. **J Am Acad Dermatol**, Schaumburg, v. 58, n. 5, s. 2, p. S133-S138, 2008.

FREITAS, L da S. **Desenvolvimento, estabilidade e eficácia de formulações fotoprotetoras contendo extrato de *Matricaria chamomilla* e seus componentes isolados**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

FREITAS, Z. M. F.; GONÇALVES, J. C. S.; SANTOS, E. P.; VERGANINI, A. Glyceridic esters of p-methoxycinnamic acid. A new sunscreen of the cinnamate class. **Int J of Cosmetic Sci**, Oxford, v. 23, n. 3, p. 147-152, 2001.

GASPARETTO, J. C. *Mikania glomerata* Spreng. e *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker, Asteraceae: estudos agronômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e uso nos programas de fitoterapia do Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, Curitiba, v. 20, n.4, p. 627-640, 2010.

- GASPARRO, F. P.; MITCHNICK, M.; NASH, J. F. A review of sunscreen safety and efficacy. **Photochemistry and Photobiology**, Washington, v. 68, n. 3, p. 243-256, 1998.
- GHAFFAR, M. F. A. *et al.* Flavonoid, hesperidin, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n.3, p. 326-330, 2010.
- GILABERTE, Y; GONZÁLEZ, S. Update on photoprotection. **Actas Dermosifiliogr.**, Madrid, v. 101, n. 8, p. 659–672, 2010.
- GLASL, S. *et al.* Sesquiterpenes and flavonoid aglycones from a hungarian taxon of the *Achillea millefolium* group. **Z. Naturforsch.** Mainz, v. 57, n. 11-12, p. 976-982, 2002.
- GOMAA, Y. A. *et al.* Chitosan microparticles incorporating a hydrophilic sunscreen agent. **Carbohydrate Polymers**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 234–242, 2010.
- GONZALEZ, S. *et al.* Current trends on photoprotection – a new generation of oral photoprotectors. **The Open Dermatology Journal**, Hilversum, v. 5, p. 6-14, 2011.
- GUARATINI, T.; MEDEIROS, M. H. G.; COLEPICOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 206-213, 2007.
- HAENEN, G. R. M. M. *et al.* Structure and activity in assessing antioxidant activity *in vitro* and *in vivo*: a critical appraisal illustrated with the flavonoids. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 21, n. 2, p. 191–198, 2006.
- HALLIDAY, G. M. *et al.* The effects of sunlight on the skin. **Drug Discovery Today: Diseases Mechanisms**, Oxford, v. 5, n. 2, p. e201-e209, 2008.
- HARIKUMAR, K. B. *et al.* Escin, a pentacyclic triterpene, chemosensitizes human tumor cells through inhibition of Nuclear Factor-kb signaling pathway. **Mol Pharmacol**, Baltimore, v. 77, p. 818–827, 2010.
- HARTMANN, K. C.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais da camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, v. 3, n. 3, p. 279-284, 2010.
- HENRIQUES, B. G. **Desenvolvimento e avaliação de preparações lipossomais contendo filtros solares sólidos UVA e UVB**. 2008. 161f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.
- HERNÁNDEZ, I. *et al.* How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 14, n. 3, p. 125-132, 2009.

HEXSEL, C. L. *et al.* Current sunscreen issues: 2007 Food and Drug Administration sunscreen labelling recommendations and combination sunscreen/insect repellent products. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Evanston, v. 59, n. 2, p. 313-326, 2008.

HONG, Y-H. *et al.* Photoprotective Effects of a Formulation Containing Tannase-Converted Green Tea Extract Against UVB-Induced Oxidative Stress in Hairless Mice. **Appl Biochem Biotechnol**, New York, v.166, p. 165–175, 2012.

HU, G.; WANG, X. Research on a natural sunscreen from Chinese herbs. **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 175–181, 1998.

IANNUCELLI, V. *et al.* Influence of liposphere preparation on butyl-methoxydibenzoylmethane photostability. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart, v. 63, n. 2, p. 140-145, 2006.

ICHIHASHI, M. *et al.* UV-induced skin damage. **Toxicology**, New York, n. 189, p. 21-39, 2003.

IDSON, B.; LAZARUS, J. Semi-sólidos. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. 3 ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 2001, p. 907-953.

INCA. Câncer. Prevenção. Fatores de Risco. Radiação. 2012. Disponível em http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=21. Acesso em: 04 fev. 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2012**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Inca, 2011. 118p.

KAUR, C. D.; SARAF, S. Photochemoprotective activity of alcoholic extract of *Camelia sinensis*. **International Journal of Pharmacology**, Faisalabad, v. 7, n. 3, p. 400-404, 2011.

KAWAGUCHI, M. *et al.* Simultaneous analysis of benzophenone sunscreen compounds in water sample by stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, New York, v. 1200, n. 2, p. 260–263, 2008.

KHAZAELI, P.; MEHRABANI, M. Screening of sun protective activity of the ethyl acetate extracts of some medicinal plants. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, Tehran, v. 7, n. 1, p. 5-9, 2008.

KIMBROUGH, D. R. The photochemistry of sunscreens. **J. Chem. Educ.**, Easton, v. 74, n. 1, p. 51-53, 1997.

KLECHEVSKY, E. *et al.* Functional specializations of human epidermal Langerhans cells and CD14⁺ dermal dendritic cells. **Immunity**, New York, v. 29, n. 3, p. 497–510, 2008.

KOCH, C. M. *et al.* Specific age-associated DNA-methylation changes in human dermal fibroblasts. **PLoS One**, San Francisco, v. 6, n. 2, 2011.

KRISHNAN, R.; NORDLUND, T. M. Fluorescence dynamics of three UV-B sunscreens. **J Fluoresc**, New York, v. 18, n. 1, p. 203–217, 2008.

KÜÇÜKKURT, I. *et al.* Beneficial effects of *Aesculus hippocastanum* L. seed extract on the body's own antioxidant defense system on subacute administration. **Journal of Ethnopharmacology**, New York, v. 129, n. 1, p. 18–22, 2010.

KULLAVANIJAYA, P.; LIM, H. W. Photoprotection. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Evanston, v. 52, n. 6, p. 937-958, 2005.

LADEMANN, J. *et al.* Determination of the thickness and structure of the skin barrier by *in vivo* laser scanning microscopy. **Laser Phys. Lett.**, Weinheim, v. 5, n. 4, p. 311-315, 2008.

LE BARS, P. L. *et al.* A placebo-controlled, double-blind, randomized trial of an extract of *Ginkgo biloba* for dementia. **JAMA**, Chicago, v. 278, n. 16, p. 1327-1332, 1997.

LEINEWEBER, S.; SCHÖNING, S.; SEEGER, K. Insight into interactions of the von-Willebrand-factor-A-like domain 2 with the FNIII-like domain 9 of collagen VII by NMR and SPR. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 585, n. 12, p. 1748–1752, 2011.

LEY, R. D.; REEVE, V. E. Chemoprevention of ultraviolet radiation-induced skin cancer. **Environmental Health Perspectives**, Durham, v. 105, s. 4, p. 981-984, 1997.

LIM, H. W. *et al.* Adverse effects of ultraviolet radiation from the use of indoor tanning equipment: Time to ban the tan. **J Am Acad Dermatol**, Evanston, v. 64, n. 5, p. 893-902, 2011.

LIMA NETO, B. *et al.* Avaliação do método de incorporação de filtro solar e vitamina E em emulsões. **Caderno de Graduação**. Ciências Biológicas e da Saúde, Aracajú, v. 11, n. 11, p. 113-126, 2010.

LUCAS, R. *et al.* Solar ultraviolet radiation: global burden of disease from solar ultraviolet radiation. World Health Organization, **Environmental Burden of Disease Series**, Geneva, n. 13, p. 1-258, 2006

MACEDO, E. V.; GEMAL, A. L. A produção de fitomedicamentos e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Rev. Bras. Farm.**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 4, p. 290-297, 2009.

MADISON, K. C. Barrier function of the skin: “La Raison d’Être” of the epidermis. **Journal of Investigative Dermatology**, Oxford, v. 121, p. 231–241, 2003.

- MAHAL, H. S.; BADHEKA, L. P.; MUKHERJEE, T. Radical scavenging properties of flavoring agent – vanillin. **Res. Chem. Intermed.**, New York, v. 27, n. 6, p. 595-604, 2001.
- MAIER, T. *et al.* Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, Barking, v. 112, n. 3, p. 551-559, 2009.
- MAITRA, I. *et al.* Peroxyl radical scavenging activity of Ginkgo biloba extract EGb761. **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 49, n. 11, pp. 1649-1655, 1995.
- MANSUR, J. de S. **Determinação do fator de proteção solar dos bronzeadores e filtros solares brasileiros em seres humanos e por espectrofotometria**. 1984. 148f. Tese (Doutorado em Dermatologia) – Faculdade de Medicina, Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1984.
- MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. A.; AZULAY, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 61, n. 3, p. 121-124, 1986.
- MASSON, P.; SCOTTI, L. Fotoproteção: um desafio para a cosmetologia. **Cosmetics & Toiletries** (edição em português), São Paulo, v. 15, n. 4, p. 42-53, 2003.
- MATSUI, M. S. *et al.* Non-sunscreen photoprotection: antioxidants add value to a sunscreen. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, Cambridge, v. 14, p. 56–59, 2009.
- MEDA, A. *et al.* Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, Barking, v. 91, p. 571-577, 2005.
- MEIRA, T. de B.; MORAES, F. L. de; BÖHME, M. T. S. Relações entre leptina, puberdade e exercício no sexo feminino. **Rev Bras Med Esporte**, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 306-310, 2009.
- MENON, G. K.; KLIGMAN, A. M. Barrier functions of human skin: a holistic view. **Skin Pharmacol Physiol**, New York, v. 22, n. 4, p. 178–189, 2009.
- MENSOR, L. L. *et al.* Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother Res**, London, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.
- MERAD, M.; GINHOUX, F; COLLIN, M. Origin, homeostasis and function of Langerhans cells and other langerin-expressing dendritic cells. **Nature Reviews Immunology**, London, v. 8, p. 935-947, 2008.
- MILESI, S. S.; GUTERRES, S. S. Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores. **Caderno de Farmácia**, Porto Alegre, v. 18, n. 2, p. 81-87, 2002.

- MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; BEEK, T. A. van. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, Barking, v. 85, n. 2, p. 231-237, 2004.
- MIOT, L. D. B. *et al.* Fisiopatologia do melasma. **An Bras Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 6, p. 623-635, 2009.
- MISHRA, A. K.; MISHRA, A.; CHATTOPADHYAY, P. Herbal cosmeceuticals for photoprotection from ultraviolet B radiation: a review. **Trop J Pharm Res**, Benin City, v. 10, p. 351-360, 2011.
- MISHRA, A. K.; MISHRA, A.; CHATTOPADHYAY, P. Assessment of physical stability and photoprotective activity of topical formulations added with calendula oil. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, Seoul, v. 12, n. 1, p. 35-40, 2012.
- MOIRANGTHEM, D. S. *et al.* Antioxidant, antibacterial, cytotoxic, and apoptotic activity of stem bark extracts of *Cephalotaxus griffithii* Hook. F. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 30, 2012. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1472-6882-12-30.pdf>>. Acesso em: 14 abr. 2012.
- MOLINA-MOLINA, J-M. *et al.* Profiling of benzophenone derivatives using fish and human estrogen receptor-specific *in vitro* bioassays. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 232, n. 3, p. 384–395, 2008.
- MONZÓN, S. *et al.* Photoallergic contact dermatitis due to isoamyl-p-methoxycinnamate. **J Investig Allergol Clin Immunol**, Barcelona, v. 19, n. 5, p. 415-416, 2009.
- MORABITO, K. *et al.* Review of sunscreen and the emergence of non-conventional absorbers and their applications in ultraviolet protection. **International Journal of Cosmetic Science**, Northwich, v. 33, n. 5, p. 385–390, 2011.
- MORALES, C. M. C.; LÓPEZ-NEVOT, M. A. Efectos de la radiación ultravioleta (UV) en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel. **Oncología**, Madrid, v. 29, n. 7, p. 291-298, 2006.
- MURCHIE, E. H.; NIYOGI, K. K. Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 155, n. 1, p. 86-92, 2011.
- NASCIMENTO, C. S. *et al.* Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha. **Rev. Bras. Farm.**, São Paulo, v. 9, n. 4, p. 334-339, 2009.
- NASH, J. F. Human safety and efficacy of ultraviolet filters and sunscreens products. **Dermatol Clin**, Philadelphia, v. 24, n. 1, p. 35 – 51, 2006.

NEWMAN, M. D., SCOTLAND, M.; ELLIS, J. I. The safety of nanosized particles in titanium dioxide– and zinc oxide–based sunscreens. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Evanston, v. 61, n. 4, p. 685-682, 2009.

NICHOLS, J. A.; KATIYAR, S. K. Skin protection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. **Arch Dermatol Res**, Berlin, v. 302, n. 2, p. 71–83, 2010.

OCHOA, M. T. *et al.* “Dermal dendritic cell” comprise two distinct populations: CD1⁺ dendritic cells and CD209⁺ macrophages. **Journal of Investigative Dermatology**, Oxford, v. 128, p. 2225–2231, 2008.

OLIVEIRA, I. O. de; ALMEIDA JÚNIOR, H. L. de. Conhecimentos atuais sobre a biologia dos melanócitos no folículo piloso humano. **An Bras Dermatol**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 3, p. 331-343, 2003.

O'NEILL, C. A.; GARROD, D. Tight junction proteins and the epidermis. **Experimental Dermatology**, Copenhagen, v. 20, p. 88–91, 2011.

PACHECO, S. M. V.; DAMASIO, F. Vanilina: origem, propriedades e produção. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 215-219, 2010.

PAIN, S. *et al.* Surface rejuvenating effect of *Achille millefolium* extract. **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 535-542, 2011.

PALM, M. D.; O'DONOGHUE, M. N. Update on photoprotection. **Dermatologic Therapy**, Oxford, v. 20, n. 5, p. 360–376, 2007.

PARIS, C. *et al.* A blocked diketo form of avobenzone: photostability, photosensitizing properties and triplet quenching by a triazine-derived UVB-filter. **Photochemistry and Photobiology**, Washington, v. 85, n. 1, p. 178–184, 2008.

PARIZI, A. C. G. *et al.* Comparação entre a concentração de mastócitos em carcinomas espinocelulares da pele e da cavidade oral. **An Bras Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 6, p. 811-818, 2010.

PEIXOTO SOBRINHO, T. J. da S. *et al.* Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação de flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 683-689, 2008.

PLANTAMED. Fitoterápicos – plantas e ervas medicinais – Plantamed. Índice de plantas e ervas medicinais por nomes populares, 2012. Disponível em: <http://www.plantamed.com.br/plantaservas/>. Acesso em: 16 fev. 2012.

POLLOCK, D. Crossing the lipid barrier with the Echo-Derm delivery system: a skin-mimicking, lamellar matrix system. In: ROSEN, M. R. **Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetic Products**: Technology, Applications, and Formulations. Norwich: William Andrew, 2005, p. 137-156.

PROKSCH, E.; BRANDNER, J. M.; JENSEN, J. The skin: an indispensable barrier. **Experimental Dermatology**, Copenhagen, v. 17, n. 2, p. 1063–1072, 2008.

RAMOS, M. F. S. *et al.* Preliminary studies towards the utilization of various plant extracts as antisolary agents. **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 18, n. 3, p. 87-101, 1996.

RANGEL, V. L. B. I.; CORRÊA, M. A. Fotoproteção. **Cosmetics & Toiletries** (edição em português), São Paulo, v. 14, n. 6, p. 88-95, 2002.

REUTER, J. *et al.* Which plant for which skin disease? Part 2: dermatophytes, chronic venous insufficiency, photoprotection, actinic keratoses, vitiligo, hair loss, cosmetic indications. **JDDG**, Berlin, v. 8, n. 11, p. 866-873, 2010.

RIBEIRO, C. **Cosmetologia aplicada a dermocosmética**. 2 ed. São Paulo: Ed. Pharmabooks, 2010, 460p.

RIBEIRO, R. P. **Desenvolvimento e Validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS *in vitro* em formulações fotoprotetoras comerciais**. 2004. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RIGEL, D. S. *et al.* **Photoaging**. New York: Marcel Dekker, Inc., 2005, 397 p.

RITTIÉ, L.; FISHER, G. J. UV-light-induced signal cascades and skin aging. **Ageing Research Reviews**, New York, n. 1, n. 4, p. 705–720, 2002.

RNJACK, J. *et al.* Severe Burn Injuries and the Role of Elastin in the Design of Dermal Substitutes. **Tissue Engineering Part B: Reviews**. New Rochelle, v. 17, n. 2, p. 81-91, 2011.

ROCHA, C. de L. J. V. Histofisiologia e classificação das queimaduras: conseqüências locais e sistêmicas das perdas teciduais em pacientes queimados. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, Juiz de Fora, v. 1, n. 3, p. 140-147, 2009.

ROCHA, L. *et al.* Mikania glomerata Spreng.: desenvolvimento de um produto fitoterápico. **Rev. Bras. Farmacogn.**, Curitiba, v. 18 (Supl.), p. 744-747, 2008.

ROHR, M. *et al.* *In vitro* sun protection factor: still a challenge with no final answer. **Skin Pharmacol Physiol**, New York, v. 23, n. 4, p. 201–212, 2010.

RONDON, A. da S. *et al.* Efeitos da radiação ultravioleta na pele. **Revista brasileira de medicina**, São Paulo, v. 62, n. 4, p. 127-130, 2005.

ROSA, M. B. da. *et al.* Estudo espectrofotométrico da atividade fotoprotetora de extratos aquosos de *Achillea millefolium*, *Brassica oleraceae* var. *capitata*, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass e *Sonchus oleraceus*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 5, n. 1, p. 101-110, 2008.

SADRIEH, N. *et al.* Lack of significant dermal penetration of titanium dioxide from sunscreen formulations containing nano- and submicron-size TiO₂ particles. **Toxicological Sciences**, San Diego, v. 115, n. 1, p. 156–166, 2010.

SAIJA, A. *et al.* Influence of different penetration enhancers on *in vitro* skin permeation and *in vivo* photoprotective effect of flavonoids. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 175, n. 1, p. 85–94, 1998.

SAMBANDAN, D. R.; RATNER, D. Sunscreens: an overview and update. **J Am Acad Dermatol**, Evanston, v. 64, n. 4, p. 748-758, 2011.

SANCHÉZ-SALDAÑA, L. *et al.* Fotoprotectores tópicos. **Revista Peruana de Dermatología**, Lima, v. 12, n. 2, p. 156-163, 2002.

SANCOVICH, A. M. de; SANCOVICH, H. A. Interacciones de las radiaciones electromagnéticas y especies reactivas del oxígeno sobre la piel. **Rev. Argent. Dermatol.**, Buenos Aires, v. 87, n. 2, p. 113-120, 2006.

SANTOS, E. P. *et al.* *In vitro* and *in vivo* determinations of sun protection factors of sunscreen lotions with octylmethoxycinnamate. **Int J of Cosmetics Sci.**, Oxford, v. 21, n. 1, p. 1-5, 1999.

SANTOS, I. *et al.* Estudo quantitativo das células de Langerhans em carcinomas basocelulares com maior e menor potencial de agressividade local. **An Bras Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 2, p. 165-171, 2010.

SASSON, C. S. *et al.* Influence of cosmetics vehicles on 4-methylbenzylidene-camphor's skin penetration, *in vitro*. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, São Paulo, v. 52, n. 2, p. 299-303, 2009.

SAYRE, R. M. *et al.* A comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formula. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, New York, v. 29, n. 3, p. 559-566, 1979.

SCALIA, S.; MEZZENA, M. Incorporation in lipid microparticles of the UVA filter, butyl methoxydibenzoylmethane combined with the UVB filter, octocrylene: effect on photostability. **AAPS PharmSciTech**, Arlington, v. 10, n. 2, p. 384-390, 2009.

SCHALKA, S.; REIS, V. M. S. dos. Fator de proteção solar: significado e controvérsias. **An Bras Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 3, p. 507-515, 2011.

SGARBI, F. C., CARMO, E. D. do, ROSA, L. E. B. Radiação ultravioleta e carcinogênese. **Rev. Ciênc. Méd.**, Campinas, v. 16, n. 4-6, p. 245-250, 2007.

SILVA, S. L. Variações anatômicas do tecido celular subcutâneo pós-perda ponderal. **Rev. Bras. Cir. Plást.**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 675-678, 2010.

SINGH, O. *et al.* Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. **Phcog Rev**, Mumbai, v. 5, n. 9, p. 82-95, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA. Análise de dados das campanhas de prevenção ao câncer da pele promovidas pela Sociedade Brasileira de Dermatologia de 1999 a 2005. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 6, p. 533-539, 2006.

SOLOVCHENKO, A. E.; MERZLYAK, M. N. Screening of visible and UV radiation as a photoprotective mechanism in plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, New York, v. 55, n. 6, p. 719–737, 2008.

SOUSA, C. M. de M *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, S. M.; VICCINI, L. F. Cytotoxic and genotoxic activity of *Aquilegia millefolium* aqueous extracts. **Rev. Bras. Farmacogn.**, Curitiba, v. 21, n.1, p. 98-104, 2011

SOUZA, S. R. P. de; FISCHER, F. M.; SOUZA, J. M. de. Bronzeamento e risco de melanoma cutâneo: revisão da literatura. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, n. 38, v. 4, p. 588-598, 2004.

SPRINGSTEEN, A; YUREK, R.; FRAZIER, M. *et al.* *In vitro* measurement of sun protection factor of sunscreen by diffuse transmittance. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v. 380, n. 2-3, p. 155-164, 1999.

SRIVASTAVA, J. K.; GUPTA, S. Straction, characterization, stability and biological activity of flavonoids isolated from chamomile flowers. **Mol Cell Pharmacol**, Ellicot City, v. 1, n. 3, p. 138-147, 2009.

SRIVASTAVA, J. K.; SHANKAR, E.; GUPTA, S. Chamomile: a herbal medicine of the past with bright future. **Mol Med Report.**, Rockville, v 3, n. 6, p. 895–901, 2010.

SUCHANECK, W. L. Systematic study of hydrothermal crystallization of zinc oxide (ZnO) nano-sized powders with superior UV attenuation. **Journal of Crystal Growth**, Amsterdam, v. 312, n. 1, p. 100–108, 2008.

SYMRISE. **UV Protection: Neo Heliopan® Hydro 103089**. Disponível em http://products.symrise.com/fileadmin/user_upload/lifeessentials/pdf/NeoHeliopan-Hydro.pdf. Acesso em 15 ago. 2011.

TABRIZI, H.; MORTAZAVI, S. A.; KAMALINEJAD, M. An *in vitro* evaluation of various *Rosa damascena* flower extract as a natural antisolar agent. **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 25, n. 6, p. 259-265, 2003.

TAI, A. *et al.* Evaluation of antioxidant activity of vanillin by using multiple antioxidant assay. **Biochimica at Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1810, p. 170-177, 2011.

TAKAHASHI, S.; BADGER, M. R. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 53-60, 2011.

THIBODEAU, G. A.; PATTON, K. T. **Estrutura e funções do corpo humano**. 11 ed. Barueri: Manole, 2002, 580 p.

THOMA, K. Photodecomposition and stabilization of compounds in dosage forms. In: TONNESEN, H. H. **Photostability of drugs and drugs formulations**. London: Taylor & Francis, 1996. p. 111-140.

TIMARES, L.; KATIYAR, S. K.; ELMETS, C. A. DNA damage, apoptosis and Langerhans cells – activators of UV-induced immune tolerance. **Photochemistry and Photobiology**, Washington, v. 84, n. 2, p. 422–436, 2008.

TSILIMIGAKI, S. I. *et al.* A study on the effects of seasonal solar radiation on exposed populations. **Mutagenesis**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 139–143, 2003.

TRUMBECKAITE, S. *et al.* Achillea millefolium L. s.l. herb extract: Antioxidant activity and effect on the rat heart mitochondrial functions. **Food Chemistry**, Barking, v. 127, p. 1540–1548, 2011.

TUCHINDA, C. *et al.* Novel emerging sunscreen technologies. **Dermatol Clin**, Philadelphia, v. 24, n. 1, p. 105 – 117, 2006.

TYNER, K. M. *et al.* The state of nano-sized titanium dioxide (TiO₂) may affect sunscreen performance. **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 234-244, 2011.

VELASCO, M. V. R. *et al.* Associação da rutina com *p*-metoxicinamato de octila e benzofenona-3: avaliação *in vitro* da eficácia fotoprotetora por espectrofotometria de refletância. **Lat. Am. J. Pharm.**, Buenos Aires, v. 27, n.1, p. 23-27, 2008a.

VELASCO, M. V. R. *et al.* Broad spectrum bioactive sunscreens. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 363, n. 1-2, p. 50-57, 2008b.

VELASCO, M. V. R. *et al.* Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (*in vitro*) – revisão. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, Araraquara, v. 32, n. 1, p. 27-34, 2011.

VENNAT, B. *et al.* Hamamelis virginiana: Identification and assay of proanthocyanidins, phenolic acids and flavonoids in leaf extracts. **Pharm. Acta Helv.**, Zürich, v. 67, n. 1, p. 11-14, 1992.

VILLONE, D. *et al.* Supramolecular interactions in the dermo-epidermal junction zone: anchoring fibrils-collagen VII tightly bindings to banded collagen fibrils. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 283, n. 36, p. 24506–24513, 2008.

- VIOLANTE, I. M. P. *et al.* Avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. **Braz J. Pharmacogn.**, Curitiba, v. 19, n. 2A, p. 452-457, 2009.
- WANG, J. F. *et al.* Deep dermal fibroblasts contribute to hypertrophic scarring. **Laboratory Investigation**, New York, v. 88, p. 1278–1290, 2008.
- WANG, L-H.; HUANG, W-S.; TAI, H-M. Simultaneous determination of *p*-aminobenzoic acid and its metabolites in the urine of volunteers, treated with *p*-aminobenzoic acid sunscreen formulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 43, n. 4, p. 1430–1436, 2007.
- WANG, L.; JAMESON, S. C.; HOGQUIST, K. A. Epidermal Langerhans cells are not required for UV-induced on immunosuppression. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 183, n. 9, p. 5548–5553, 2009.
- WANG, S. Q.; BALAGULA, Y.; OSTERWALDER, U. Photoprotection: a review of the current and future technologies. **Dermatologic Therapy**, Oxford, v. 23, n. 4, p. 31-47, 2010.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Monographs on selected medicinal plants. 4 ed. Salerno-Paestum: World Health Organization, v. 4, 2005.
- WILKINSON, J. A.; BROWN, A. M. G. Horse chestnut – *Aeculus hippocastanum*: potential applications in cosmetic skin care products. **International Journal of Cosmetic Science**, Oxford, v. 21, n. 6, p. 437-447, 1999.
- WONG, T.; ORTON, D. Sunscreen allergy and its investigation. **Clinics in Dermatology**, New York, v. 29, n. 3, p. 306–310, 2011.
- WU, Y. *et al.* Antioxidants add protection to a broad-spectrum sunscreen. **Clinical and Experimental Dermatology**, Oxford, v. 36, n. 2, p. 178–187, 2010.
- YAMAGUCHI, Y.; BEER, J. Z.; HEARING, V. J. Melanin mediated apoptosis of epidermal cells damaged by ultraviolet radiation: factors influencing the incidence of skin cancer. **Arch Dermatol Res**, New York, v. 300, s. 1, p. S43-S50, 2008.
- YARAK, S.; OKAMOTO, O. K. Células-tronco derivadas de tecido adiposo humano: desafios atuais e perspectivas clínicas. **An Bras Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 5, p. 647-656, 2010.
- ZHANG, X. *et al.* Identification of possible reactive oxygen species involved in ultraviolet radiation-induced oxidative DNA damage. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 23, n. 7, p. 980–985, 1997.
- ZIAEE, A. *et al.* Effects of rutin on lipid profiles on hypercholesterolaemic rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, Odense, v. 104, n. 3, p. 253–258, 2009.