Revista de Ciências
Farmacêuticas
Básica e Aplicada
Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2012;33(2):225-232
ISSN 1808-4532

Avaliação do fator de proteção solar em fotoprotetores acrescidos com extratos da flora brasileira ricos em substâncias fenólicas

Vanessa Marquito Munhoz[1]; Audrey Alesandra Stinghen Garcia Lonni[2]; João Carlos Palazzo de Mello[2]; Gisely Cristiny Lopes[2,*]

[1]Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Londrina, Paraná, Brasil.
[2]Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

RESUMO

Sabe-se que o número de casos de câncer de pele tem crescido muito nos últimos anos. Com isso, novos produtos são constantemente desenvolvidos no intuito de aumentar a gama de substâncias para proteção solar. O principal objetivo desse trabalho foi a análise *in vitro* da propriedade fotoprotetora de uma formulação contendo filtros solares químicos, adicionada de extratos brutos de *Guazuma ulmifolia, Maytenus ilicifolia, Stryphnodendron adstringens* e *Trichilia catigua,* respectivamente, e a avaliação quanto ao acréscimo do Fator de Proteção Solar (FPS). O ensaio foi conduzido pelo método espectrofotométrico *in vitro* do Fator de Proteção Solar (FPS). O teor de Polifenóis Totais (PT) e sua correlação com a Capacidade Antioxidante (CA) dos extratos avaliados foram realizados. Os resultados demonstram que as formulações foram estáveis após a adição dos extratos, quanto a características físico-químicas (características macroscópicas, ensaio de centrifugação e pH) quando comparadas ao controle. O ensaio de FPS *in vitro* demonstrou decaimento do FPS das formulações acrescidas de extratos vegetais ricas em compostos fenólicos, exceto para o extrato de *S. adstringens*. Os FPS obtidos para os extratos foram ≤2. O teor em PT foram (%): *G. ulmifolia*, 24,26±0,34; *M. ilicifolia*, 14,66±0,18; *S. adstringens*, 34,38±0,62 e *T. catigua*, 41,60±0,13. Os valores da CA (IC_{50}) frente ao radical DPPH foram (µg/mL): vitamina C (7,52±0,12), *G. ulmifolia* (8,94±0,13), *M. ilicifolia* (38,41±0,93), *S. adstringens* (7,31±0,15) e *T. catigua* (5,48±0,04). A CA foi diretamente proporcional ao teor de PT.

Palavras-chaves: Filtro solar. Fator de Proteção Solar. *Guazuma ulmifolia*. *Maytenus ilicifolia*. *Stryphnodendron adstringens*. *Trichilia catigua*.

Autor correspondente: Gisely Cristiny Lopes - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual de Maringá - Maringá PR - Brasil - Av. Colombo, 5790 - CEP.87020-900 - Jardim Universitário Maringá-PR-Brasil-fone:(44)3011-4835-e-mail: giselycl@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

As radiações solares necessárias à fotossíntese nos vegetais, saúde e bem estar no homem, também podem causar danos agudos ou crônicos à pele humana, dependendo da duração e frequência de exposição, intensidade das radiações baseadas na latitude e da sensibilidade do indivíduo. Os efeitos nocivos da radiação solar vão além do eritema, edema e calor iniciais, e incluem distúrbios imunológicos, danos ao DNA, ativação de proteínas de estresse, aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) e redução da eficácia dos sistemas antioxidantes naturais (Flor et al., 2007). Juchem et al. (1998) sugerem que há aproximadamente 40 tipos de doenças que são causadas ou agravadas pela exposição solar, entre elas: doenças genéticas (xeroderma pigmentoso, albinismo), desordens metabólicas (porfirias), doenças induzidas por drogas fototóxicas ou fotoalergênicas, doenças fotoimunológicas, doenças degenerativas, assim como diversos outros processos como a urticária solar e o lúpus eritematoso discóide.

Diversos estudos epidemiológicos realizados pela Organização Mundial da Saúde apontam que a exposição à radiação ultravioleta (UV) é o principal agente etiológico do câncer cutâneo, especialmente se a exposição excessiva à radiação solar ocorrer durante a infância e adolescência (WHO, 2001). A incidência do câncer de pele vem crescendo rapidamente nas últimas décadas, superando até mesmo o câncer de mama, próstata e pulmão, tornando-se um grave problema de saúde pública, uma vez que interfere na qualidade de vida da população (WHO, 2001). A Sociedade Americana de Câncer estimou que em 2010, dos dois milhões de novos casos de carcinomas basocelulares e de células escamosas, cerca de 60 mil casos de melanoma estariam associados à radiação ultravioleta (UV) (American Cancer Society, 2010).

No Brasil, de acordo com as estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA), o câncer de pele ocupa o primeiro lugar dentre todos os tipos de cânceres e apresenta tendência de aumento no número de novos casos em todo o território nacional. Dados epidemiológicos do INCA indicam que sua letalidade é considerada baixa; porém, em alguns casos em que há demora no diagnóstico, esse

câncer pode levar a ulcerações e deformidades físicas graves. O número de novos casos de câncer de pele não melanoma estimado para o Brasil no ano de 2010 foi de 53.410 entre homens e de 60.440 nas mulheres. Estes valores correspondem a um risco estimado de 56 e 61 casos novos a cada 100 mil homens e mulheres, respectivamente (INCA, 2010).

A prevenção do câncer de pele, inclusive os melanomas, inclui ações de prevenção primária, por meio de proteção contra luz solar, que são efetivas e de baixo custo (INCA, 2010). Portanto, é extremamente importante a ampliação de estudos relacionados à obtenção de novas substâncias fotoprotetoras, priorizando o desenvolvimento de formulações mais eficazes em relação ao amplo espectro de radiação eletromagnética.

Filtros solares são substâncias que fornecem proteção contra os efeitos nocivos da radiação solar, em particular, da radiação UV (Brasil, 2006). Estudos recentes mostram que uma variedade de protetores solares pode reduzir os efeitos carcinogênicos e imunossupressores da exposição solar excessiva (Said et al., 2007; El-Boury et al., 2007; Katiyar, 2003). Novas perspectivas tecnológicas têm colaborado para que os fotoprotetores se tornem cada fez mais efetivos em sua ação (Mota et al., 2008; Chorilli et al., 2006). Recentemente, substâncias de origem natural têm sido consideradas como potenciais recursos para a proteção solar (Savian et al., 2010; Guaratini et al., 2009; Nascimento et al. 2009; Velasco et al., 2008; Violante et al., 2008; Rosa et al., 2008; Ferrari et al., 2007; Acevedo et al., 2005; Silva et al., 2005). Isso se deve principalmente a capacidade de absorção da radiação ultravioleta pelos cromóforos da molécula, associada à possível atividade antioxidante dos extratos averiguados (Guaratini et al., 2009). Os polifenóis do chá verde são exemplos de substâncias naturais que vem sendo avaliadas por suas propriedades de fotoprotetoras (Katiyar, 2003; Elmets et al., 2001). O estudo de ativos naturais que possam atuar sinergicamente com os filtros solares químicos e físicos para a ampliação do fator de proteção solar tem se intensificado nos últimos anos (Velasco et al., 2008; Ramos et al., 1996). Estes estudos demonstraram boas expectativas com relação ao uso de substâncias fenólicas como filtros solares.

Este trabalho teve por objetivo a análise da eficácia *in vitro* da propriedade fotoprotetora de uma formulação contendo filtros solares químicos, adicionada de extratos vegetais da flora brasileira ricos em substâncias fenólicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Drogas vegetais

As cascas de *Guazuma ulmifolia* Lam. foram coletadas no inverno de 2003 na região de Ibiporã, PR. O estudo taxonômico da espécie foi realizado pela Profa. Dra. Cássia Mônica Sakuragui. A exsicata encontra-se depositada no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (UEM) com número HUEM nº 10.242. O material vegetal foi seco à sombra em temperatura ambiente e local arejado.

As folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek foram coletadas no município de Marialva, PR e secas à temperatura ambiente por 12 dias. A exsicata está depositada no Herbário da Universidade Estadual de Maringá, sob o número HUEM 10.623, sendo identificada pela Profa. Dra. Ezilda Jacomassi.

As cascas secas do *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, foram adquiridas na empresa Sabor Saúde Produtos Naturais, Londrina, PR em 14/05/2010, correspondendo ao lote 046 da empresa Santosflora Comércio de Ervas Ltda (São Paulo, Brasil), com laudo da autenticidade fornecido pela empresa.

As cascas secas de *Trichilia catigua* A. Juss. foram doadas pelo Laboratório Catarinense S/A. O material é proveniente de uma região de ocorrência natural da espécie, localizado na Rodovia Paramirim-Macaúbas, BA. Realizou-se exsicata do material, a qual foi identificada pelo botânico Dr. Gerdt Guenther Hatschback e depositada no Herbário da Prefeitura Municipal de Curitiba, PR, Brasil, sob n° 306.253.

Material

O ácido cítrico (Mapric), ácido etilenodiaminotetracético (Mapric), álcool cetoestearílico (Oxiteno), álcool cetoestearílico etoxilado com 20 moles de óxido de etileno (Oxiteno), benzofenona-3 (Specshem), ciclometicona (Dow Corning), metilparabeno (Mapric), metoxicinamato de octila (Specshem), polissorbato-80 (Oxiteno), propilenoglicol (Dow Brasil) e o propilparabeno (Mapric) foram adquiridos da Mapric (Brasil). O monoestearato de glicerila foi adquirido junto a Croda (Brasil) e o miristato de isopropila da ChemSpecs (Brasil). Álcool etílico (Synth®), carbonato de sódio (F. Maia) e o reagente de Folin-Ciocalteau (Dinâmica) foram adquiridos da Induslab.

Instrumentação

Medições espectrofotométricas foram realizadas em espectrofotômetro Genesys 6, Thermo Scientific, com cubetas de quartzo QS.

Obtenção dos extratos

As cascas de *G. ulmifolia*, *S. adstringens*, *T. catigua* e as folhas de *M. ilicifolia* foram cominuídas, empregando o material sem separação granulométrica. A extração foi realizada por turbólise, na proporção de 10% (m/v), utilizando como solvente para *M. ilicifolia* e *S. adstringens*, mistura hidroalcoólica: etanol/água (1:1; v/v), e para *G. ulmifolia* e *T. catigua* uma solução extratora constituída de acetona/água (7:3;v/v), durante 15 minutos com intervalos de 5 minutos, seguido de filtração a vácuo. O solvente orgânico foi eliminado em evaporador rotatório sob pressão reduzida, e os extratos foram congelados e liofilizados obtendo-se assim o extrato bruto (EB): extrato bruto de *G. ulmifolia* (EBG), extrato bruto de *M. ilicifolia* (EBM), extrato bruto de *S. adstringens* (EBS) e extrato bruto de *T. catigua* (EBT).

Determinação do comprimento de onda máximo e da absorvância máxima dos extratos secos

Para determinação do comprimento de onda máximo (λ_{max}.) e da absorvância máxima (A_{max}.), os extratos secos foram diluídos em álcool etílico absoluto (50,0 mg/L; m/v) e realizada varredura entre os comprimentos de onda de 210 a 400 nm, para verificar a absorção nas regiões ultravioleta A, B e C (UVA, UVB e UVC). Foi utilizado o álcool etílico absoluto como branco e o experimento realizado em triplicata.

Determinação do teor de polifenóis totais nos extratos vegetais

A porcentagem de polifenóis totais nos EB foram avaliadas utilizando o reagente Folin-Ciocalteau, seguindo o método da Farmacopeia Europeia (European Pharmacopoeia, 2007). Amostras de 100 mg dos EB foram empregadas e as análises foram realizadas em triplicata.

Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos vegetais

A capacidade antioxidante dos extratos vegetais foi realizada através do método de sequestro de radical DPPH. A técnica por estabilização do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi alterada de Amarowicz et al. (2004), onde foram pesados 5 mg de cada amostra e diluídas em metanol até se obter as concentrações de 8,0; 6,5; 5,0; 3,5 e 2,0 µg/mL, acrescentando 375 µL de DPPH (1 mmol/L). As análises foram realizadas em triplicata. Após 30 min, foi realizada leitura em espectrofotômetro a 517 nm, empregando como branco uma solução de BHT (butil hidróxi tolueno) (representando 100% de capacidade antioxidante), vitamina C como controle positivo, e como controle negativo, DPPH em metanol. As atividades sequestrantes de radicais livres dos extratos foram expressas em porcentagem, segundo a equação:

$$\%ASR = \frac{(AbsCN - AbsA)}{AbsCN} X100$$

AbsCN= absorvância do controle negativo;
AbsA= absorvância da amostra.

A concentração do extrato (µg/mL) necessária para atingir 50% de atividade sequestrante de radicais DPPH (IC50) foi calculada a partir do gráfico de %ASR contra a concentração da amostra.

Preparação das formulações

A fórmula fotoprotetora padrão consistiu em emulsão do tipo O/A, contendo como filtros químicos: metoxicinamato de octila e benzofenona-3, de acordo com a Tabela 1. A emulsão foi preparada aquecendo as fases 1 e 2 a 75 ºC, separadamente. Logo após, verteu-se a fase 2 sobre a fase 1, sob agitação constante. Finalizando com a adição da fase 3 e homogeneização à temperatura inferior a 40 ºC.

Para a preparação da emulsão base, utilizou-se as mesmas matérias-primas e a técnica descrita anteriormente, sem a adição dos filtros químicos.

Tabela 1. Composição da formulação padrão, em percentual por peso.

FASE	MATÉRIAS-PRIMAS	QUANTIDADE (%p/p)
1	Água Destilada	Qsp 100
	Ácido etilenodiaminotetracético	0,10
	Metilparabeno	0,30
	Propilenoglicol	5,00
	Ácido cítrico	0,05
2	Álcool cetoestearílico	5,00
	Monoestearato de glicerila	3,00
	Álcool cetoestearílico etoxilado com 20 moles de óxido de etileno	4,00
	Miristato de Isopropila	3,00
	Propilparabeno	0,10
	Metoxicinamato de octila	8,50
	Benzofenona-3	7,00
	Polissorbato-80	5,00
3	Ciclometicone	2,00

Preparo das amostras

As amostras foram preparadas através da adição a frio de quantidade de EB levigadas em propilenoglicol, correspondente a 0,5 g de polifenóis totais a 50 g da fórmula fotoprotetora padrão, resultando na concentração de 10 mg/g de polifenóis totais à fórmula fotoprotetora.

Para a avaliação do FPS dos EB na ausência dos filtros químicos, uma alíquota correspondente a 0,5 g de polifenóis totais, foi incorporada a 50 g da emulsão base.

As amostras foram preparadas e analisadas em triplicata, para cada extrato.

Análise das Amostras

Após preparadas, a fórmula fotoprotetora padrão e as amostras fotoprotetoras acrescidas com os EBs foram deixadas em repouso por 24 h. Posteriormente, foram realizados o teste em centrífuga, análise macroscópica, determinação de pH (Isaac et al., 2008) e a avaliação do FPS.

Análise Macroscópica

As características organolépticas (aspecto, cor e odor) foram avaliadas e registradas quaisquer mudanças significativas após a adição dos EB, comparado à fórmula fotoproterora padrão (Brasil, 2004).

Teste de Centrifugação

O teste foi realizado utilizando 5 g de cada amostra, centrifugando-as a 3000 rpm por 30 min (Brasil, 2004).

Determinação do pH

Para determinação do pH, as amostras foram diluídas a 10% (m/v) em água destilada. As determinações foram realizadas em pHmetro digital (Gehaka, PG 2000) previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 6,86 (Farmacopeia Brasileira, 2010). O resultado corresponde à média de três determinações.

Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS)

Para a determinação do FPS foi utilizado o método *in vitro* espectrofotométrico desenvolvido por Mansur e colaboradores (Mansur et al., 1986a,1986b) e utilizado por outros autores (Savian et al., 2010; Ferrari et al., 2007; Borghetti & Knorst, 2006).

As amostras foram diluídas com etanol 96 ºGL até a concentração final de 0,2 µg/mL (Ribeiro, 2004). A absorvância das soluções foram determinadas na faixa de 290 a 320 nm, com intervalos de 5 nm, sendo usado etanol 96 ºGL como líquido de compensação. Foram realizadas três determinações para cada comprimento de onda.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através de análise de variância ANOVA, onde os resultados foram considerados significativos quando a probabilidade foi inferior a 5% ($p<0,05$) e pelo teste *t* de Student, com nível de significância $\alpha=0,05$. A avaliação estatística dos resultados foi realizada através do STATISTICA® e Excel®.

RESULTADOS

Os teores de polifenóis totais nos extratos estudados, expressos em porcentagem foram: *G. ulmifolia*, 24,26 % ± 0,34; *M. ilicifolia*, 14,66 % ± 0,18; *S. adstringens*, 34,38 % ± 0,62 e *T. catigua*, 41,60 % ± 0,13.

Na figura 1 estão representados os valores de IC_{50} realizados pelo método de redução do radical DPPH apresentados pela vitamina C (7,52 µg/mL ± 0,12; cv%= 1,59), extrato bruto de *G. ulmifolia* (8,94 µg/mL ± 0,13; cv%= 1,45), extrato bruto de *M. ilicifolia* (38,41 µg/mL ± 0,93; cv%= 2,42), extrato bruto de *S. adstringens* (7,31 µg/mL ± 0,15; cv%= 2,12) e extrato bruto de *T. catigua* (5,48 µg/mL ± 0,04; cv%= 0,73).

A fórmula fotoprotetora padrão e as amostras foram analisadas visando à avaliação da estabilidade física do produto. No teste de centrífuga nenhuma das amostras apresentou qualquer alteração em relação ao seu aspecto original, permanecendo estáveis neste parâmetro. Na análise macroscópica, de maneira geral as amostras quando comparadas a fórmula fotoprotetora padrão apresentaram-se homogêneas, com odor característico de cada extrato adicionado. Observou-se que a cor das amostras foi determinada pela coloração dos extratos. Assim, as amostras contendo extratos de *G. ulmifolia*, apresentaram-se marrom clara, *M. ilicifolia*, verde escura, *S. adstringens*, marrom escura, e *T. catigua*, de coloração alaranjada.

Os resultados das avaliações do pH e do FPS das formulações estudadas estão representados na tabela 2. Na tabela 2 também são considerados os valores de FPS dos extratos secos incorporados à emulsão base.

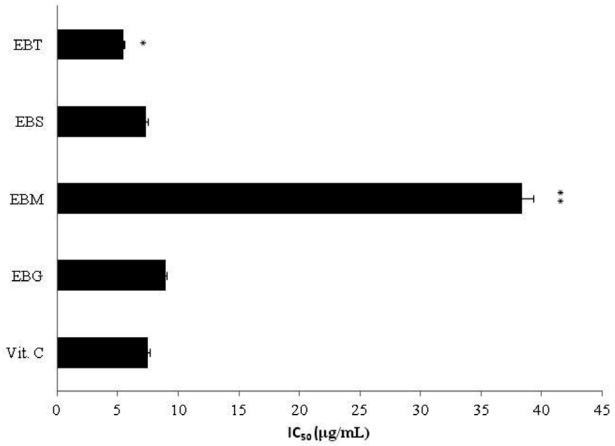

Figura 1. Capacidade antioxidante de extratos vegetais pela redução do radical DPPH (IC50). *; **ANOVA, estatisticamente significante ($P<0,05$); Vit. C=vitamina C; EBG=extrato bruto de *G. ulmifolia*; EBM=extrato bruto de *M. ilicifolia*; EBS=extrato bruto de *S. adstringens*; EBT=extrato bruto de *T. catiguá*.

Tabela 2. Valores calculados de FPS e pH para as amostras avaliadas e a fórmula fotoprotetora padrão (n=3).

Amostra	FPS [($\overline{X}$ ± *dp* (CV%)]	pH [($\overline{X}$ ± *dp* (CV%)]
Fórmula Fotoprotetora Padrão (FFP)	20,2 ± 0,15 (0,75)	6,44 ± 0,01 (0,21)
FFP + EB de Guazuma ulmifolia	19,05 ± 0,44 (2,30)	5,30 ± 0,08 (0,11)
FFP + EB de Maytenus ilicifolia	18,22 ± 0,11 (0,61)	5,51 ± 0,06 (1,09)
FFP + EB de Stryphnodendron adstringens	20,7 ± 3,10 (14,96)	5,51 ± 0,03 (0,48)
FFP + EB de Trichilia catigua	19,22 ± 0,12 (0,61)	5,87 ± 0,01 (0,11)
Emulsão base + EB de Guazuma ulmifolia	0,30 ± 0,03 (9,59)	-
Emulsão base + EB de Maytenus ilicifolia	0,34 ± 0,05 (14,69)	-
Emulsão base + EB de Stryphnodendron adstringens	0,33 ± 0,02 (5,24)	-
Emulsão base + EB de Trichilia catigua	0,20 ± 0,03 (13,23)	-

DISCUSSÃO

A crescente preocupação com os efeitos deletérios à exposição solar levou ao desenvolvimento de preparações tópicas que se utilizam de uma combinação de filtros químicos e físicos que protegem a pele em toda a faixa do espectro ultravioleta. Atualmente a tendência para o desenvolvimento de fotoprotetores é a redução na concentração de filtros químicos. Tal fato se deve ao surgimento de eventos adversos ocasionados pelo uso tópico de substâncias ou formulações e mesmo por sua absorção cutânea, o que compromete a eficácia fotoprotetora (Velasco et al., 2008). A busca de novas moléculas fotoprotetoras, que possam atuar sinergicamente com os filtros químicos amplamente empregados, é uma alternativa para aumentar a segurança e a eficiência dos fotoprotetores. Assim, a busca de novas móleculas junto às drogas vegetais ricas em substâncias fenólicas tornou-se uma possibilidade viável, pois estas são formadas por um núcleo comum fundamental benzopirano ou cromano unido a anel aromático caracterizado pelo esqueleto de carbono C6-C3-C6, que possuem uma semelhança estrutural muito próxima aos filtros químicos. Portanto, drogas vegetais ricas em substâncias fenólicas têm sido estudadas com o objetivo de avaliar a atividade fotoprototera de seus extratos (Nascimento et al., 2009; Rosa et al., 2008; Katiyar, 2003).

Os resultados obtidos na avaliação do teor de polifenóis totais nos extratos secos sugerem concentrações elevadas de substâncias fenólicas. O extrato seco de *T. catigua* foi o que apresentou a maior concentração, 41,60%. No extrato seco de *M. ilicifolia* o porcentagem de substâncias fenólicas foi de 14,66%, a menor entre os extratos investigados. Segundo Carvalho et al. (2007), substâncias fenólicas, por serem substâncias aromáticas, mostram uma intensa absorção na região do UV. Com relação a sua capacidade de absorver a radiação eletromagnética, estudos com algas marinhas têm demonstrado que a presença de substâncias fenólicas nestes organismos auxilia na proteção contra radiação UV (Salgado et al., 2007). De acordo com Agarelli (2010), a estrutura química da molécula e como ela ressona é de fundamental importância para o mecanismo de ação dos filtros solares. Pois nestas moléculas a energia absorvida da radiação UV causa uma "excitação fotoquímica" que a leva a um estado de energia mais alto do que o original através da absorção da radiação UV. No entanto, assim que a molécula excitada retorna ao seu estado original, emite uma energia de menor magnitude, ou seja, a molécula absorve UV, ressona e devolve energia em forma de calor (acima de 800 nm). As substâncias fenólicas por se tratarem de substâncias aromáticas ricas em hidroxilas apresentam grande capacidade de ressonância em sua estrutura.

Ensaios desenvolvidos por Ramos e colaboradores (1996), com extratos brutos de *Hamamelis virginiana* L., *Matricaria recutita* L., *Aesculus hippocastanum* L., *Rhamnus prushiana* DC. e *Cinnamomum zeylanicum* Blume, que continham em sua composição química, substâncias como flavonoides, taninos e antraquinonas, quando incorporados a uma formulação contendo 2% de metoxicinamato de octila, levaram a um aumento no fator de proteção solar (FPS), sugerindo potencialização. Nascimento et al. (2009), avaliaram *in vitro* a capacidade de incremento da atividade fotoprotetora em formulação comercial, de dois tipos diferentes de própolis, ambas ricas em substâncias fenólicas do tipo flavonoides. Os resultados sugerem sinergismo, indicando que os extratos poderiam ser utilizados para aumento do efeito fotoprotetor das formulações.

No entanto, na avaliação do FPS (tabela 2), pode-se observar que nas amostras quando comparadas à fórmula fotoprotetora padrão, não houve aumento do FPS. Apenas a amostra contendo o extrato de *S. adstringens* mostrou um leve aumento do FPS, que, no entanto, não é significativo estatisticamente. Quanto às demais amostras, a redução do FPS pode indicar alguma incompatibilidade dos filtros químicos com os extratos utilizados. Vários são os fatores que podem interferir na eficiência do filtro na formulação. Entre eles: o tipo de filtro versus o pH do meio, a polaridade da fase oleosa, o tipo de emulsionante utilizado entre outros (Shaath, 1997; Agarelli, 2010).

Observou-se que com a adição dos extratos vegetais, houve diminuição no pH (tabela 2), quando comparado ao pH da fórmula fotoprotetora padrão, porém os valores ainda estão compatíveis com o manto levemente ácido da pele com pH entre 4,6 e 5,8 (Rodrigues, 1996). Quanto à redução do FPS (tabela 2), o menor pH nas amostras, pode ter contribuído para esta redução, uma vez que os filtros solares químicos são mais estáveis em pH próximos da neutralidade (Shaath, 1997). Em pH neutro há menor possibilidade de ocorrer deslocamentos batocrômicos ou hipsocrômicos nas bandas de absorção UVB (Shaath, 1997).

De acordo com a legislação brasileira, RDC 237 de 22/08/2002 (Brasil, 2002) um produto adequado para utilização em cosméticos para bronzear ou fotoproteger, deve apresentar um FPS igual ou superior a 2. Sendo assim, nenhum dos extratos vegetais, nas condições avaliadas, podem ser considerados com potencial fotoprotetor (tabela 2). De acordo com Bobin et al. (1994) que estudaram 100 diferentes extratos vegetais, um dos fatores que determinam a eficiência de um produto natural como fotoprotetor é sua composição química e consequentemente sua atividade em absorver as radiações UV, além do coeficiente de extinção molar e a solubilidade. Um fator relevante que pode interferir no FPS refere-se à concentração das moléculas capazes de absorver radiação UV presentes nestes extratos (Violante et al., 2009). Nos extratos avaliados, apesar da presença dos compostos fenólicos, a absorção da radiação ultravioleta pelas moléculas presentes nestes extratos vegetais não foi significativa (tabela 2) no método utilizado.

Na avaliação dos espectros de varredura na região UV dos extratos, observou-se que a banda de absorção máxima dos componentes presentes, localizou-se na região do UVC, entre 200 a 225 nm, não contribuindo dessa forma para o aumento do FPS, que considera a absorção de radiação apenas na região UVB (290-320 nm) (dados não mostrados).

O espectro de varredura da emulsão base mostra que há absorção na região UV, no entanto essa não influencia no FPS, pois não é significativa na região de 290 a 320 nm. Quanto ao espectro de varredura da fórmula fotoproterora padrão, esta apresentou forte banda de absorção na região UVB, devido à presença dos filtros químicos benzofenona-3 e metoxicinamato de octila, com bandas de absorção entre 288 e 325 nm.

Assim, nas condições e concentrações padronizadas neste estudo para a determinação do FPS *in vitro* por espectrofotometria de luz UV, nenhuma das espécies analisadas, apesar de absorver a radiação UV, tem potencial para ser utilizadas como filtro solar natural, por possuírem pouca capacidade de absorção de energia nas regiões UVA e UVB.

No entanto, não se pode descartar a possibilidade destas espécies atuarem na proteção contra os danos induzidos pela radiação UV através de outros mecanismos como a inibição da ação ou geração de radicais livres (Greul et al., 2002; Stahl & Sies, 2002; De Gálvez, 2010).

Os resultados mostraram que a capacidade antioxidante pelo método do radical DPPH (figura 1) foi diretamente proporcional ao teor de polifenóis totais. O EBT apresentou alto teor em polifenóis totais e uma correlação direta com a capacidade antioxidante em termos de IC_{50}, quando comparada à vitamina C. Ao contrário desta observação é a correlação com o EBM, que demonstrou uma baixa capacidade antioxidante (IC_{50}) com um baixo teor em polifenóis totais.

Muitos extratos de origem natural, que possuem grande quantidade de substâncias fenólicas, vêm sendo estudados e têm demonstrado pronunciada atividade antioxidante (Politi et al., 2011; Pessuto et al., 2009), anti-inflamatória (Melo et al., 2007; Delaporte et al., 2002) e anticâncer (Zi et al., 1998). O chá verde, em estudo realizado por Katiyar et al. (2001) foi capaz de reduzir a produção de EROs induzida pela radiação UV na pele humana. Além disso, a substância, isolada desta droga vegetal, epigalocatequina-3-*O*-galato, mostrou-se eficaz em prevenir a depleção de enzimas, como glutationa peroxidase, catalase e glutationa na pele de camundongos irradiados com radiação UVB (Vayalil et al., 2003).

Com base nos resultados obtidos no presente estudo em relação ao potencial fotoprotetor de espécies da flora vegetal brasileira rica em compostos fenólicos, os extratos analisados não podem ser considerados como ativos fotoprotetores, de acordo com a metodologia empregada. Novos estudos deverão ser conduzidos para a otimização de frações químicas destas plantas enriquecidas em compostos fenólicos, suas concentrações efetivas e a possível interação destas ou de substâncias isoladas com os filtros sintéticos para a potencialização do FPS. Além disso, sugere-se ainda que sejam realizados estudos complementares para a avaliação da capacidade antioxidante das espécies estudadas, contra os danos induzidos pela radiação UV.

ABSTRACT

Evaluation of the Sun Protection Factor in sunscreens added to with vegetable extracts rich in phenolic substances

It is known that the number of cases of skin cancer has increased greatly in recent years. Therefore, new products are constantly developed in order to increase the range of substances for sun protection. The aim of this study was evaluate *in vitro* the property the sunscreen containing chemical sunscreens, with added to extracts of *Guazuma ulmifolia, Maytenus ilicifolia, Stryphnodendron adstringens* and *Trichilia catigua,* respectively, and their evaluation as to the increase of a Sun Protection Factor (SPF). The test was conducted by the spectrophotometric method of *in vitro* Sun Protection Factor (SPF). The percentage of the Total Polyphenol (TP) and its correlation with Antioxidant Capacity (CA) of the extracts evaluated were performed. The results show that the formulations were stable after the addition of extracts, in relation as the physico-chemical characteristics (macroscopic characteristics, test centrifugation and pH) when compared to control (time 0). The FPS test *in vitro* showed decrease SPF of the formulations added of plant extracts rich in phenolic compounds, except for the extract of *S. adstringens*. The FPS for the extracts obtained were ≤ 2. The percentage of the PT were (%): *G. ulmifolia*, 24,26±0,34; *M. ilicifolia*, 14,66±0,18; *S. adstringens*, 34,38±0,62 e *T. catigua*, 41,60±0,13. The values of CA (IC_{50}) against the DPPH radical were (µg/mL): vitamin C (7,52±0,12), *G. ulmifolia* (8,94±0,13), *M. ilicifolia* (38,41±0,93), *S. adstringens* (7,31±0,15) e *T. catigua* (5,48±0,04). CA was directly proportional to the content of PT.

Keywords: Sunscreen. Sun Protection Factor. *Guazuma ulmifolia*. *Maytenus ilicifolia*. *Stryphnodendron adstringens*. *Trichilia catigua*.

REFERÊNCIAS

Acevedo JGA, Castaneda CMC, Benitez FJC, Durán DA, Barroso VR, Martínez CG, Munõz LJL, Martínez CA, Romo de Vivar A. Photoprotective activity of *Buddleja scordioides*. Fitoterapia. 2005;76(3-4):301-309.

Agarelli AB. Fótons, quantuns e filtros solares. Revista de Cosmetologia e Ingredientes Cosméticos. 2010;35:14-15.

Amarowicz R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chem. 2004;84(4):551-562.

American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2010. Atlanta: American Cancer Society; 2010.

Bobin MF, Raymond M, Martini MC. UVA/UVB absorption properties of natural products. Cosmet Toiletries. 1994;109:63-78.

Borghetti GS, Knorst MT. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. Rev Bras Cienc Farm 2006;42(4):531-537.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 237, de 22 de agosto de 2002. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Protetores Solares em Cosméticos. *Diário Oficial da União*, nº163, de 23 de agosto de 2002. Seção 1E. p. 40.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. v.1. Brasília; 2004.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 47, de 16 de março de 2006. Lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene

pessoal, cosméticos e perfumes. *Diário Oficial da União*, nº53, 17 de março de 2006. Seção 1. p.60.

Carvalho JCT, Gosmann G, Schenkel EP. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS; 2007. p. 519-536.

Chorilli M, Udo MS, Cavallini ME, Leonardi GR. Desenvolvimento e estudos preliminares de estabilidade de formulações fotoprotetoras contendo Granlux GAI-45 TS. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2006;27(3):237-246.

De Gálvez MV. Antioxidants in Photoprotection: do they really work? Actas dermo-sifiliogr. 2010;101(3):197-200.

Delaporte RH, Sánchez GM, Cuellar AC, Giuliani A, Mello JCP. Anti-inflammatory activity and lipid peroxidation inhibition of iridoid lamiide isolated from *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae). J Ethnopharmacol. 2002;82(2-3):127-130.

El-Boury S, Couteau C, Bouland L, Paparis E, Coiffard LJM. Effect of the combination of organic and inorganic filters on the Sun Protection Factor (SPF) determined by *in vitro* method. Int J Pharm. 2007;340(1-2):1-5.

Elmets CA, Singh D, Tubesing K, Matsui M, Katiyar SK, Mukhtar H. Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. J Am Acad Dermatol. 2001;44(3):425-432.

European Pharmacopoeia. Council of Europe. European Directorate for the Quality of Medicines. *Determination of tannins in herbal drugs*. 6nd. ed. Strasbourg: European Pharmacopoeia; 2007.

Farmacopéia Brasileira. 5. ed. v.1. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA; 2010.

Ferrari M, Oliveira MSC, Nakano AK, Rocha-Filho PA. Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). Rev Bras Farmacogn. 2007;17(4):626-630.

Flor J, Davolos MR, Correa MA. Protetores solares. Quim Nova. 2007;30(1):153-158.

Greul AK, Grundmann JU, Heinrich F, Pfitzner I, Bernhardt J, Ambach A, Biesalski HK, Gollnick H. Photoprotection of UV-Irradiated Human Skin: An Antioxidative Combination of Vitamins E and C, Carotenoids, Selenium and Proanthocyanidins. Skin Pharmacol Physiol. 2002;15(5):307-315.

Guaratini T, Callejon DR, Pires DC, Lopes JNC, Lima LM, Giannella Neto D, Sustovich C, Lopes NP. Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. Quim Nova. 2009;32(3):717-721.

Instituto Nacional de Câncer - INCA. Estimativas 2010: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer; 2010.

Isaac VLB, Cefali LC, Chiari BG, Oliveira CCLG, Salgado HRN, Corrêa MA. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2008;29(1):81-96.

Juchem PP, Hochberg J, Winogron A, Ardenghy M, English R. Riscos à Saúde da Radiação Ultravioleta. Rev Bras Cir Plast. 1998;13(2):47-60.

Katiyar SK, Afaq F, Mukhtar H. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation induced oxidative stress. Carcinogenesis. 2001;2(2):287-294.

Katiyar SK. Skin Photoprotection by Green Tea: Antioxidant and Immunomodulatory Effects. Current Drug Targets. 2003;3(3):234-242.

Mansur JS, Breder MNR, Mansur MCA, Azulay RD. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. An Bras Dermatol. 1986a;61(3):121-124.

Mansur JS, Breder MNR, Mansur MCA, Azulay RD. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. An Bras Dermatol. 1986b;61(4):167-172.

Melo JO, Endo TH, Bersani-Amado LE, Svidzinski AE, Baroni S, Mello JCP, Bersani-Amado CA. Effect of Stryphnodendron adstringens (barbatimão) bark on animal models of nociception. Braz J Pharmac Scien. 2007;43(3):465-468.

Mota ACV, Volpato NM, Freitas ZMF, Santos EP. Estudo de liberação *in vitro* do filtro solar *p*-metoxicinamato de octila incluso em lipossoma e β-ciclodextrina. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2008;29(3):285-289.

Nascimento CS, Nunes LCC, Lima AAN, Grangeiro Júnior S, Rolim Neto PJ. Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha. Rev Bras Farm. 2009;90(4):334-339.

Pessuto MB, Costa IC, Souza AB, Nicoli FM, Palazzo de Mello JC, Petereit F, Luftmann H. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. Quim Nova. 2009;32(2):412-416.

Politi FAS, Mello JCP, Migliato KF, Nepomuceno ALA, Moreira RRD, Pietro RCLR. Antimicrobial, Cytotoxic and Antioxidant Activities and Determination of the Total Tannin Content of Bark Extracts *Endopleura uchi.* Int J Mol Sci. 2011;12(4):2757-2768.

Ramos MFS, Stantos EP, Blzarri CHB, Mattos HA. Preliminary studies towards utilization of various plant extracts as antisolar agents. Int J Cosmet Sci. 1996;18(3):87-101.

Ribeiro RP. Determinação e validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS in vitro em formulações fotoprotetoras comerciais. [Dissertação]. Rio de Janeiro: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2004.

Rodrigues L. Bioengenharia cutânea: novas perspectivas sobre a fisiologia da pele. Cosmet T*oiletries. 1996;8(5):51-55.*

Rosa MB, Oliveira TG, Carvalho CA, Silva FD, Carvalho LM, Nascimento PC, Peres RL. Estudo espectrofotométrico da atividade fotoprotetora de extratos aquosos de *Achillea millefolium, Brassica oleracea* var. *Capitata, Cyperus rotundus, Plectranthus barbatus, Porophyllum ruderale (*Jacq.) Cass e *Sonchus oleraceus*. Rev Eletr Farm [Internet]. 2008;5(1):101-110. Disponível em: http://www.revistas.ufg.br/index.php/REF/article/view/4620.

Said T, Dutot M, Martin C, Beaudeux JL, Boucher C, Enee E, Baudouin C, Warnet JM, Rat P. Cytoprotective effect against UV-induced DNA damage and oxidative stress: Role of new biological UV filter. Eur J Pharm Sci. 2007;30(3-4):203-210.

Salgado LT, Tomazetto R, Cinelli LP, Farina M, Amado Filho GM. The influence of brown algae alginates on phenolic compounds capability of ultraviolet radiation absorption in vitro. Braz J Oceanogr. 2007;55(2):145-154.

Savian AL, Varella FT, Athayde ML, Silva CB. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. Rev Bras Farm. 2010;91(2):24-30.

Shaath NA. The chemistry of sunscreens. In: Lowe NJ, Shaath NA, Pathak MA. Sunscreens, development, evaluation and regulatory aspects. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker; 1997.

Silva VV, Ropke CD, Almeida RL, Miranda DV, Kera CZ, Rivelli DP, Sawada TCH, Barros SBM. Chemical stability and SPF determination of *Pothomorphe umbellata* extract gel and photostability of 4-nerolidylcathecol. Int J Pharm. 2005;303(1-2):125-131.

Stahl W, Sies H. Carotenoids and protection against solar UV radiation. Skin Pharmacol Physiol. 2002;15(5):291-296.

Vayalil PK, Elmets CA, Katiyar SK. Treatment of green tea polyphenols in hydrophilic cream prevents UVB-induced oxidation of lipids and proteins, depletion of antioxidant enzymes and phosphorylation of MAPK proteins in SKH-1 hairless mouse skin. Carcinogenesis. 2003;24(5):927-936.

Velasco MVR, Balogh TS, Pedriali CA, Sarruf FD, Pinto CASO, Kaneko TM, Baby AR. 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. 2008;27(1):23-7.

Violante IMP, Souza IM, Venturini CL, Ramalho AFS, Santos RAN, Ferrari M. Estudo preliminar da atividade fotoprotetora *in vitro* de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. Rev Bras Farm. 2008;89(3):175-179.

Violante IMP, Souza IM, Venturini CL, Ramalho AFS, Santos RAN, Ferrari M. Avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. Rev Bras Farmacogn. 2009;19(2A):452-457.

World Health Organization - WHO. Fact sheet nº 261: protecting children from ultraviolet. Genebra: World Health Organization; 2001.

Zi X, Feyes DK, Agarwal R. Anticarcinogenic effect of a flavonoid antioxidant, silymarin, in human breast cancer cell MDA-MB 468: induction of G1 arrest through an increase in Cip1/p21 concomitant with a decrease in kinase activity of cyclin-dependent kinases and associated cyclins. Clin Cancer Res. 1998;4(4):1055-1064.

Recebido em 18 de maio de 2011.

Aceito em 3 de abril de 2012.