



# UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
E BIOTECNOLOGIA

**POTENCIAL FOTOPROTETOR, ANTIOXIDANTE E ANTIGLICANTE DE EXTRATOS  
ETANÓLICOS OBTIDOS A PARTIR DE FIBRAS DE CASCAS DE COCO (*Cocos nucifera* L.  
(PALMAE)) E DE CASCAS E FRUTOS DE PIMENTA ROSA (*Schinus terebinthifolius* Raddi  
(ANACARDIACEAE))**

**MÔNICA BEZERRA DOS SANTOS OLIVEIRA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**

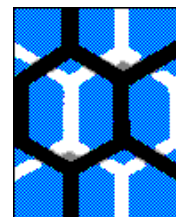
Campus A. C. Simões

Tabuleiro dos Martins

57072-970 - Maceió - AL



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS- UFAL  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA- IQB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E  
BIOTECNOLOGIA - PPGQB**



**MÔNICA BEZERRA DOS SANTOS OLIVEIRA**

**POTENCIAL FOTOPROTETOR, ANTIOXIDANTE E ANTIGLICANTE DE  
EXTRATOS ETANÓLICOS OBTIDOS A PARTIR DE FIBRAS DE CASCAS DE  
COCO (*Cocos nucifera* L. (PALMAE)) E DE CASCAS E FRUTOS DE PIMENTA  
ROSA (*Schinus terebinthifolius* Raddi (ANACARDIACEAE))**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Marília Oliveira  
Fonseca Goulart

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Iara Barros  
Valentim

**Maceió  
2019**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

O48p Oliveira, Mônica Bezerra dos Santos.

Potencial fotoprotetor, antioxidante e antiglicante de extratos etanólicos obtidos a partir de fibras de cascas de coco (*Cocos nucifera* L. (Palmae)) e de cascas e frutos de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)) / Mônica Bezerra dos Santos Oliveira. – 2019.

128 f. : il. color.

Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.

Coorientadora: Iara Barros Valentim.

Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2019.

Bibliografia: f. 113-124.

Anexos: f. 125-128.

1. Coco. 2. *Schinus terebinthifolius* Raddi. 3. Compostos fenólicos. 4. Antioxidantes. 5. Fotoproteção. 6. Antiglicantes. 7. Fotoestabilidade (Espectroscopia). I. Título.

CDU: 52-74:615.262.2



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E**  
**BIOTECNOLOGIA**




BR 104 Km14, Campus A. C. Simões  
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins  
57072-970, Maceió-AL, Brasil  
Fone: (82) 3214-1144  
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

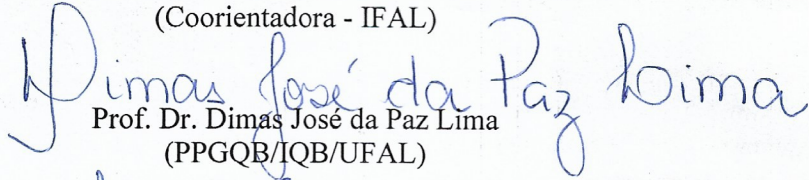
**FOLHA DE APROVAÇÃO**


Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese da Doutoranda **MÔNICA BEZERRA DOS SANTOS OLIVEIRA** intitulada: “**Potencial fotoprotetor, antioxidante e antiglicante de extratos etanólicos obtidos a partir de fibras de cascas de coco (*Cocos nucifera* L. (Palmae)) e de cascas e frutos de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)).**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 25 de setembro de 2019, às 14h00, no auditório do Severinão (NPM)

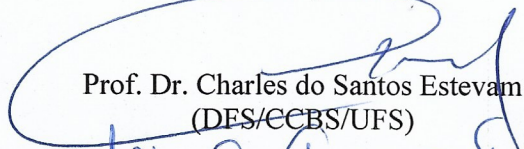
COMISSÃO JULGADORA

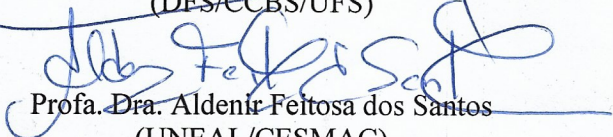
  
Profa. Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart  
(Orientador (a) - PPGQB/IQB/UFAL)

  
Profa. Dra. Iara Barros Valentim  
(Coorientadora - IFAL)

  
Prof. Dr. Dimas José da Paz Lima  
(PPGQB/IQB/UFAL)

  
Prof. Dr. Francis Soares Gomes  
(PPGQB/IQB/UFAL)

  
Prof. Dr. Charles do Santos Estevam  
(DES/CCBS/UFS)

  
Profa. Dra. Aldenir Feltosa dos Santos  
(UNEAL/CESMAC)

***Dedico este trabalho,***  
*Aos meus pais pelo apoio e carinho,*  
*Aos meus irmãos pelo amor e incentivo a mim destinados,*  
*Ao meu esposo Roberto por todo seu amor e dedicação,*  
*Em especial a minha filha Marina, minha maior inspiração foi com você,*  
*por você e para você.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida, por sempre me guiar em todos os momentos, me proporcionando força e sabedoria.

Aos meus pais, Mário e Vilma, pelo amor, carinho e por toda minha educação, pelo apoio e incentivo sempre.

Ao meu esposo Roberto, por todo o apoio e incentivo e dedicação que foram essenciais para a realização desse trabalho.

Aos meus irmãos Marcela e Maxwell, pelo apoio e pela torcida, sempre vibrando com as minhas conquistas, e em especial, agradeço imensamente a minha irmã, Michele, que não mediu esforços em me ajudar, cuidando com muito carinho e dedicação, do meu bem mais precioso que é a minha filha Marina, sem seu apoio seria tudo mais difícil.

À minha filha Marina que sem dúvida é meu maior incentivo para a realização deste trabalho.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dra. Marília Goulart, pelo acolhimento, pela oportunidade, confiança e paciência que foram imprescindíveis para a realização deste trabalho, pela contribuição com os ensinamentos valiosos para a minha vida profissional e pessoal e, pela amizade.

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Iara Valentim, por me encorajar a seguir em frente, por todas horas concedidas para a realização deste trabalho, pela confiança, pelos ensinamentos passados, desde os meus primeiros momentos na pesquisa científica, pelo carinho e amizade.

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio G. Santana, pelo fornecimento das amostras das fibras da casca de coco, para a realização deste trabalho.

Ao técnico e amigo Aldy, por toda sua ajuda no processo de extração das amostras, por toda sua disponibilidade em ajudar sempre em todos os momentos que necessitei, pela amizade e carinho.

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Jadriane, pelo suporte, na realização dos ensaios antiglicante, pela amizade e pela descontração.

À pós-doutoranda Andresa, pelo apoio e suporte na realização do meu estágio docência e também, pela amizade.

À IC Tauanne, por todo o auxílio dado para a realização deste trabalho e pela amizade.

Aos amigos do laboratório Fred, Ana Caroline, Tamires, Orlando, Nicholas, Nataly, Aline, Ana Paula, Dave, André, Felipe, Amilly, Lourdinha, Marilene e Rafaela pelos momentos de discussão científica, pelo apoio, pela descontração, pelos conselhos, pela disposição em ajudar nos momentos em que precisei, e sobretudo pela amizade.

Aos amigos da graduação e de toda vida, Maria Dayanne, Claudécir Henrique, João Paulo e Daniel pelo carinho, amizade, confiança e incentivo em todos os momentos alegres e difíceis.

Aos professores do IQB que contribuíram com valiosas informações para a minha formação científica.

Aos Professores Dr. Emiliano Barreto (ICBS) e Dr. Alexandre Borbely, pelos ensaios desenvolvidos.

À Profa. Dra. Carla B. G. Bottoli, pelas discussões e trabalhos realizados em conjunto.

Ao Doutor José Roberto Fonseca da Eco-engenho, pelo fornecimento das amostras de *Schinus terebinthifolius* Raddi para a realização do trabalho.

Aos professores examinadores da banca pela valiosa contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos Cida e Jovem, pelo carinho, amizade e disponibilidade.

A minha família, minha avó, minhas tias, meus tios, minha sogra aos meus cunhados e cunhada, por tudo...

A todos aqueles que contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho. Aos órgãos financiadores CNPq, INCT-Bioanalítica, CAPES, FAPEAL e à UFAL pelo apoio financeiro.

Muito Obrigada!

## RESUMO

A exposição à radiação solar em excesso, pode ocasionar efeitos pronunciados sobre a pele, induzir ao envelhecimento precoce e desenvolvimento de câncer. O uso de fotoprotetores é uma das mais eficazes alternativas contra os danos causados pela radiação ultravioleta (UV). Extratos vegetais têm sido empregados em formulações protetoras devido à sua capacidade de absorção no UV, em comprimentos de onda adequados, ação antioxidante e fotoprotetora, entre outras. As espécies *Cocos nucifera* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi (conhecida popularmente como pimenta rosa), são ricas em compostos fenólicos que exercem tais ações. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os extratos etanólicos das fibras da casca de coco da variedade anão amarelo e das cascas e frutos de pimenta rosa, quanto ao conteúdo total de fenóis, às capacidades antioxidantes e antiglicante, o potencial fotoprotetor, a viabilidade celular e composição química. Para isso, os extratos foram avaliados quanto ao conteúdo total de fenóis (CTF), à capacidade antioxidante (pelos ensaios DPPH• e FRAP), capacidade antiglicante (pelos ensaios de albumina bovina (BSA)-Glicose/Frutose, BSA-metilglicoxal (MG) e Colágeno-Glicose/Frutose), potencial fotoprotetor, com avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS), avaliação da viabilidade celular de macrófagos J774 e células HTR-8SV/neo, e a identificação de compostos orgânicos por (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE). Houve preparação de formulações fotoprotetoras contendo extratos incorporados à creme base Lanette (5-20% m/m) do extrato da fibra do coco e (5-10% m/m) dos extratos de pimenta rosa, que foram avaliadas quanto ao potencial fotoprotetor (FPS), fotoestabilidade (por meio de espectroscopia no UV-VIS e FTIR-ATR.) e teste de estabilidade normal (TEN), frente aos parâmetros organolépticos (aspecto, cor e odor), físico-químicos, pH e funcionais (valor de FPS). Também foram preparadas formulações contendo filtro comercial benzofenona-3 e extrato etanólicos nas concentrações (4:1) e (1:1), para cada associação, e avaliadas quanto ao valor de FPS. O conteúdo de fenóis totais variou entre 452,56 - 673 mg EAG g<sup>-1</sup> extrato seco. A capacidade antioxidante variou entre 24,1 - 78,4% para a habilidade de sequestrar o radical DPPH• e entre 3287 – 3484 µmol ET/g de extrato seco, com destaque para o extrato do coco e das cascas de pimenta. Para a capacidade antiglicante, o EEAA se mostrou promissor em todos os ensaios utilizados. Em relação ao potencial fotoprotetor, os extratos EEAA e ECPR se destacaram com valor de FPS > 6, em concentrações de 0,2 – 15 mg mL<sup>-1</sup>. Os extratos não diminuíram a viabilidade celular e não exerceram efeito citotóxico. As análises de CLAE possibilitaram identificar compostos fenólicos como quercetina, catequina, epicatequina, ácidos cafeíco e vanílico para o EEAA, e os ácidos gálico e cumárico, catequina, epicatequina e resveratrol para o ECPR e EFPR. As formulações exibiram valores de FPS > 6 semelhantes aos padrões benzofenona-3 e quercetina. As formulações com filtro comercial e extratos associados (1:1) promoveram intensificação nos valores de FPS. Os extratos e formulações apresentaram-se fotoestáveis ao longo do tempo de duas horas. No teste de estabilidade normal, as formulações se apresentaram estáveis em relação aos parâmetros analisados por um período de 90 dias. Os resultados sugerem que os extratos estudados podem ser considerados como ingredientes ativos na preparação de formulações cosméticas/farmacêuticas, com potencial biotecnológico.

**Palavras chaves:** *Cocos nucifera*, *Schinus terebinthifolius* Raddi, Compostos fenólicos, Capacidade Antioxidante, Fotoproteção, Capacidade Antiglicante, Fotoestabilidade.



## ABSTRACT

Exposure to excessive solar radiation can cause pronounced effects on the skin, induce premature aging and cancer development. The use of photoprotectors is one of the main effective alternatives against the damage caused by ultraviolet (UV) radiation. Plant extracts were employed in protected formulations due to their absorption capacity in adequate UV wavelengths, antioxidant and photoprotective action. The species *Cocos nucifera* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi (popularly known as pink pepper) are rich in phenolic compounds that exert such action. Thus, the objective of the present work was to evaluate the ethanolic extracts of the yellow dwarf coconut husk fibers and the peel and fruits of pink pepper, as the total phenol content, antioxidant and antiglycation capacities, photoprotective potential, cell viability and chemical composition. For this, the extracts were evaluated for total phenol content (CTF), antioxidant capacity by DPPH • and (FRAP) assays, antiglycation capacity by Bovine Serum Albumin (BSA)-Glucose / Fructose, BSA-Methylglyoxal (MG) and Collagen-Glucose / Fructose assays, photoprotective potential, by evaluation of Sunscreen Factor Evaluation (SPF). cell viability evaluation of J774 macrophages and HTR-8SV / neo cells, and the identification of organic compounds, the last one by High Performance Liquid Chromatography - HPLC), of the ethanolic extracts of husk fiber of coconut yellow dwarf (EEAA), peel and fruit of the pink pepper (ECPR and EFPR), were also performed. In addition, the development of photoprotective formulations containing extracts incorporated into Lanette base cream (5-20% m/m) of coconut fiber extract and (5-10% m /m) of pink pepper extracts, were evaluated for photoprotective potential (SPF), photostability study (by UV-VIS and FTIR-ATR spectroscopy techniques) and normal stability test (TEN) against organoleptic parameters (appearance, color and odor), physicochemical pH and functional characteristics (SPF value). Formulations containing commercial benzophenone-3 filter and ethanolic extract at concentrations (4: 1) and (1: 1) for each combination were also prepared and evaluated for SPF value. The total phenol content ranged from 452.56 - 673 mg EAG g<sup>-1</sup> dry extract. Antioxidant capacity ranged from 24.1 - 78.4% for the ability to scavenger DPPH• radical and between 3287 - 3484 μmol ET / g of dry extract, especially coconut and peel pepper extract. Antiglycation capacity of EEAA was significant in all the assays used. Regarding the photoprotective potential, EEAA and ECPR extracts stood out with SPF value > 6 at concentrations of 0,2–15 mg mL<sup>-1</sup>. The extracts did not decrease cell viability and did not exert cytotoxic effect. Through HPLC analyzes, it was possible to identify phenolic compounds, such as quercetin, catechin, epicatechin, caffeic and vanillic acids for EEAA, and gallic and coumaric acids, catechin, epicatechin and resveratrol for ECPR and EFPR. The formulations exhibited SPF values > 6 similar to the ones for benzophenone-3 and quercetin standards. The formulations with commercial filter and associated extracts (1: 1) promoted intensification in SPF values. The extracts and formulations were photostable over a period of two hours. In the normal stability test, the formulations were stable in relation to the parameters analyzed for a period of 90 days. The results suggest that the studied extracts can be considered as active ingredients in the preparation of cosmetic/pharmaceutical formulations, with a biotechnological potential.

**Keywords:** *Cocos nucifera*, *Schinus terebinthifolius* Raddi, Phenolic Compounds, Antioxidant Capacity, Photoprotection, Antiglycation capacity, Photostability.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Espectro da radiação solar.....	22
Figura 2 -	Estrutura da pele.....	23
Figura 3 -	Capacidade de penetração dos raios UV nas camadas da pele.....	24
Figura 4 -	Principais efeitos causados pelos raios UV.....	26
Figura 5 -	Modo de ação dos filtros UV inorgânico (a) e orgânico (b).....	28
Figura 6 -	Esquema do processo de absorção UV pelos filtros orgânicos e conversão em VIS e IV.....	29
Figura 7 -	Diagrama de Perrin Jablonski.....	28
Figura 8 -	Híbridos de ressonância da benzofenona.....	32
Figura 9 -	Estruturas moleculares da quercetina (a) e rutina (b).....	42
Figura 10 -	Esquema simplificado das principais etapas da reação de Maillard.....	49
Figura 11 -	Efeitos dos AGEs .....	50
Figura 12 -	Coqueiro e fibras das cascas de coco.....	52
Figura 13 -	Cachos com frutos maduros da espécie <i>Schinus terebinthifolius</i> .....	55
Figura 14 -	Rota experimental simplificada utilizada no presente trabalho.....	59
Figura 15 -	Reação do ácido gálico em presença do molibdato, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.....	62
Figura 16 -	Reação de redução de DPPH* por um antioxidante genérico RH.....	63
Figura 17 -	Reação de redução do complexo TPTZ [Fe(III)/Fe(II)].....	64
Figura 18 -	Conversão do MTT para formazan pela succinil desidrogenase.....	69
Figura 19 -	Espectros de absorção de UV-vis das formulações: (A) Creme + EEAA 5, 10 e 20% (m/m) (2 mg mL <sup>-1</sup> ), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5) (0,2 mg mL <sup>-1</sup> ), Creme + quercetina a 5% (CQ5) (0,2 mg mL <sup>-1</sup> ) e Creme Lanette (CL).....	81
Figura 20 -	Espectros de absorção de UV-vis das formulações: (A) Creme + ECPR 5 e 10% (m/m) (2 mg mL <sup>-1</sup> ), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5) (0,2 mg mL <sup>-1</sup> ), Creme + quercetina a 5% (CQ5) (0,2 mg mL <sup>-1</sup> ) e Creme Lanette (CL) e (B) Creme + EFPR 5 e 10% (m/m) (2 mg mL <sup>-1</sup> ), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5) (0,2 mg mL <sup>-1</sup> ), Creme + quercetina a 5% (CQ5) (0,2 mg mL <sup>-1</sup> ) e Creme Lanette (CL).....	81
Figura 21 -	Cromatograma do EEAA (4 mg mL <sup>-1</sup> ) (A). Picos: 1 – Quercetina, 2 – Catequina, 3 – Ácido vanílico, 4 – Ácido cafeíco e 5 – Epicatequina, detectados a 254 nm.....	87
Figura 22 -	Cromatograma do ECPR (5 mg mL <sup>-1</sup> ) (A) e co-injeção dos padrões fenólicos (0,5 mg mL <sup>-1</sup> ) (B). Picos: 1 – Ácido gálico, 2 – Catequina, 3 – Epicatequina, 4 – Ácido <i>p</i> -Cumárico e 5 – Resveratrol, detectados a 280 nm.....	89
Figura 23 -	Cromatograma do EFPR (5 mg mL <sup>-1</sup> ) (A) Picos: 1 – Ácido gálico, 2 – Catequina, 3 – Epicatequina, 4 – Ácido <i>p</i> -Cumárico e 5 – Resveratrol, detectados a 280 nm.....	91
Figura 24 -	Porcentagem de inibição da formação de AGEs no sistema BSA-Glicose/Frutose pelas amostras ECPR e EFPR.....	94
Figura 25 -	Efeito do extrato de coco etanólico anão amarelo (EEAA) na viabilidade de linhagem de macrófagos J774 usando o método de MTT. As células foram tratadas com EEAA (10, 50 ou 100 µg mL <sup>-1</sup> ) e expostas por 24 h. Os dados foram expressos como % de viabilidade	

	celular e representados como média $\pm$ desvio-padrão. O controle negativo foi o solvente usado para dissolver o extrato.....	95
Figura 26 -	Efeito dos extratos de pimenta rosa na viabilidade de células HTR-8SV / neo sob diferentes concentrações. As células foram tratadas com solução DMEM / F12 (Controle) e com (0,01, 0,1, 1, 10 e 100 $\mu$ g mL <sup>-1</sup> ) de ECPR (A) e EFPR (B). Os dados foram expressos como % de viabilidade celular e representados como média $\pm$ desvio-padrão, com n=3, em triplicata. (p<0,05).....	96
Figura 27 -	Efeito dos extratos de pimenta rosa na viabilidade dos explantes dos tecidos placentários sob diferentes concentrações. As células foram tratadas com solução DMEM / F12 (Controle) e com (0,01, 0,1, 1, 10 e 100 $\mu$ g mL <sup>-1</sup> ) de ECPR (A) e EFPR (B). Os dados foram expressos como % de viabilidade celular e representados como média $\pm$ desvio-padrão, com n=3, em triplicata. (p<0,05).....	97
Figura 28 -	Fator de proteção solar dos extratos e formulações: EEAA, Creme + EEAA 5% (m/m) (CEEAA5), ECPR, Creme + ECPR 5% (m/m) (CECPR5), EFPR, Creme + EFPR 10% (m/m) (CEFPR5), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5), Creme + quercetina a 5% (CQ5) a (5 mg mL <sup>-1</sup> ) obtidos em função do tempo de radiação UV. ....	98
Figura 29 -	Proposta das estruturas dos produtos de quercetina obtidos por irradiação UV em etanol (1) ou em amônia aquosa no escuro (2) .....	99
Figura 30 -	Estruturas químicas do <i>trans</i> e <i>cis</i> -resveratrol.....	101
Figura 31 -	Espectros de FTIR para o EEAA (A), ECPR (B) e EFPR (C) antes da exposição à radiação UVB-UVA.....	102
Figura 32 -	Espectros de FTIR para o EEAA (A), ECPR (B) e EFPR (C) após exposição à radiação UVB-UVA, nos tempos de 30, 60, 90 e 120 min....	103
Figura 33 -	Espectros de FTIR para o creme Lanette (CL) (A) e as formulações CLEAA5 (B), CECPR5 (C) e CEFPR10 (D), CB5 (E) e CQ5 (F). após exposição à radiação UVB-UVA, nos tempos de 30, 60, 90 e 120 min...	104
Figura 34 -	Fator de proteção solar das formulações submetidas ao estudo de estabilidade (90 dias): Creme + EEAA 5% (m/m) (CEEAA5), Creme + ECPR 5% (m/m) (CECPR5), Creme + EFPR 10% (m/m) (CEFPR5), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5), Creme + quercetina a 5% (CQ5) a (5 mg mL <sup>-1</sup> ).....	109

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Fotoprotetores orgânicos e faixas de absorção no UV.....	30
Tabela 2 -	Filtros solares regulamentados pela ANVISA.....	34
Tabela 3 -	Relação entre o efeito eritematogênico e intensidade de radiação em cada comprimento de onda.....	37
Tabela 4 -	Estrutura básica de flavonóides e principais classes, estrutura química e fontes de obtenção.....	40
Tabela 5 -	Potencial fotoprotetor de extratos vegetais, frações e formulações protetoras.....	43
Tabela 6 -	Benefícios de alguns antioxidantes naturais isolados ou associados a filtro solares em formulações protetoras.....	47
Tabela 7 -	Extratos das fibras da casca do coco, atividades biológicas e principais fitoquímicos presentes nos extratos.....	53
Tabela 8 -	Extratos dos frutos de pimenta rosa, atividades biológicas e principais compostos fitoquímicos.....	57
Tabela 9 -	Equipamentos utilizados no presente trabalho.....	58
Tabela 10 -	Sistema de Gradiente das fases móveis utilizado nas análises de CLAE para o EEAA.....	66
Tabela 11 -	Sistema de Gradiente das fases móveis utilizado nas análises de CLAE para ECPR e EFPR.....	66
Tabela 12 -	Códigos de identificação das formulações preparadas a partir dos extratos e padrões filtro comercial e fenólico.....	71
Tabela 13 -	Rendimentos das extrações etanólicas.....	74
Tabela 14 -	Conteúdo total de fenóis (CTF), DPPH* (ASR% e IC <sub>50</sub> ) e FRAP dos extratos etanólicos de fibras das cascas de coco anão amarelo e pimenta rosa (cascas e frutos) .....	75
Tabela 15 -	Conteúdo total de fenóis de resíduos de frutas e vegetais (cascas, frutos e sementes) .....	76
Tabela 16 -	Fator de proteção solar (FPS) dos extratos etanólicos das fibras da casca do coco anão amarelo, cascas e frutos de pimentas, e suas formulações.....	79
Tabela 17 -	Valores de FPS encontrados na literatura para extratos de cascas, frutos e formulações protetoras preparadas com extratos vegetais incorporados.....	83
Tabela 18 -	Fator de proteção solar para as formulações contendo extratos + Benzofenona-3.....	84
Tabela 19.	Padrões fenólicos, estruturas e tempos de retenção (R <sub>t</sub> /min) presentes no EEAA.....	88
Tabela 20 -	Padrões fenólicos, estruturas e tempos de retenção (R <sub>t</sub> /min) presentes no ECPR e EFPR.....	90
Tabela 21 -	Efeitos de inibição do EEAA e aminoguanidina sobre a formação dos AGEs, induzida por Glicose/Frutose e metilglioxal.....	92
Tabela 22 -	Características organolépticas e físico-química das formulações analisadas no estudo de estabilidade normal.....	107

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASR	Atividade Sequestradora de Radical
AGEs	Produtos de Glicação Avançada
ALEs	Produtos de lipoxidação avançada
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Reflecção total atenuada
BSA	Albumina de soro bovina
BSA-MG	Albumina de soro bovina - Metilglioxal
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CTF	Conteúdo total de fenóis
COLIPA	Associação Europeia de perfumaria, cosmético e artigo de Higiene Pessoal
DAD	Detector de arranjos de fotodiodo
DEM	Dose Eritematógena Mínima
DPPH•	Difenil-picril-hidrazina
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ET	Equivalentes de Trolox
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FPS	Fator de Proteção Solar
FRAP	Potencial redutor de ferro
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
HOMO	Orbital molecular ocupado mais alto
IC <sub>50</sub>	Concentração que inibe 50% de determinada atividade
INCI	International nomenclature of cosmetics ingredients
LUMO	Orbital molecular não ocupado mais baixo
MG	Metilglioxal
MTT	Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide
RDC	Resolução da diretoria colegiada
SUS	Sistema único de saúde
TPTZ	2,4,6-tris(2-piridil) -5-triazina

UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
IV	Infravermelho
UV	Ultravioleta
UV-vis	Ultravioleta visível

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1</b>	<b>Radiação ultravioleta (UV).....</b>	<b>21</b>
<b>3.2</b>	<b>Pele e efeitos da radiação UV.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3</b>	<b>Fotoproteção.....</b>	<b>27</b>
3.1.1	Filtros solares.....	27
3.3.2	Formulações fotoprotetoras.....	33
3.3.3	Avaliação da eficácia das formulações fotoprotetoras.....	34
3.3.3.1	Metodos <i>in vitro</i> para a determinação do FPS.....	36
<b>3.4</b>	<b>Flavonóides e atividade fotoprotetora.....</b>	<b>39</b>
<b>3.5</b>	<b>Antioxidantes na fotoproteção.....</b>	<b>45</b>
<b>3.6</b>	<b>Atividade antiglicante.....</b>	<b>48</b>
<b>3.7</b>	<b><i>Cocos nucifera</i> Linnus.....</b>	<b>51</b>
3.7.1	Composição química e atividades biológicas de <i>Cocos nucifera</i> L.....	52
<b>3.8</b>	<b><i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....</b>	<b>54</b>
3.8.1	Composição química e atividades biológicas de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	56
<b>3.9</b>	<b>Justificativa .....</b>	<b>57</b>
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTAL.....</b>	<b>58</b>
<b>4.1</b>	<b>Reagentes, solventes e equipamentos.....</b>	<b>58</b>
<b>4.2</b>	<b>Métodos.....</b>	<b>59</b>
4.2.1	Obtenção das amostras.....	60
4.2.2	Obtenção dos extratos etanólicos das fibras das cascas de <i>Cocos nucifera</i> L. E da pimenta-rosa ( <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi) .....	60
4.2.3	Determinação do conteúdo total de fenóis.....	61
4.2.4	Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH*.....	62
4.2.5	Capacidade antioxidante pelo método de redução de ferro – FRAP.....	63
4.2.6	Avaliação do Fator de proteção solar (FPS) <i>in vitro</i> dos extratos etanólicos de <i>Cocos nucifera</i> e <i>Schinus terebinthifolius</i> .....	64
4.2.7	Identificação dos compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....	65
4.2.8	Avaliação da capacidade antiglicante.....	67
4.2.8.1	Sistema BSA-Glicose/Frutose.....	64
4.2.8.2	Sistema BSA-MG.....	65
4.2.8.3	Sistema Colágeno – Glicose/Frutose.....	68
4.2.9	Ensaio de viabilidade celular.....	68
4.2.10	Preparo das formulações com extratos etanólicos de <i>Cocos nucifera</i> e <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	70
4.2.11	Fotoestabilidade.....	71
4.2.12	Estudo da estabilidade normal das formulações fotoprotetora.....	73
4.2.13	Análises estatística.....	73
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>74</b>
<b>5.1</b>	<b>Rendimento dos extratos.....</b>	<b>74</b>
<b>5.2</b>	<b>Conteúdo de total de fenóis e capacidade antioxidante frente ao radical DPPH* e pelo método de FRAP.....</b>	<b>74</b>
<b>5.3</b>	<b>Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) dos extratos etanólicos e formulações.....</b>	<b>78</b>

<b>5.4</b>	<b>Identificação dos compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....</b>	<b>86</b>
<b>5.5</b>	<b>Avaliação da capacidade antiglicante.....</b>	<b>92</b>
5.5.1	Sistemas BSA- Glicose/Frutose, BSA-MG e Colágeno-Glicose/Frutose.	92
<b>5.6</b>	<b>Ensaio de viabilidade celular.....</b>	<b>95</b>
<b>5.7</b>	<b>Fotoestabilidade.....</b>	<b>97</b>
5.7.1	Avaliação do FPS das amostras irradiadas por lâmpadas UVA-UVB.....	97
<b>5.8</b>	<b>Estudo da estabilidade das formulações fotoprotetora.....</b>	<b>105</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>110</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>111</b>
	<b>PERSPECTIVAS.....</b>	<b>111</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>112</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A radiação (UV) compreende uma faixa do espectro eletromagnético entre 100 e 400 nm. Dependendo do comprimento de onda, a luz UV se encontra subdividida em 3 regiões diferentes e específicas: UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (100-280 nm). Os raios UV são considerados como um fator exógeno importante do ponto de vista biológico, visto que, estes raios podem oferecer uma série de benefícios aos seres vivos, como a ativação da vitamina D, que atua na prevenção de doenças ósseas (CASTRO et al., 2011; PÉREZ-SÁNCHEZ et al., 2018). No entanto, a exposição crônica aos raios UV apresenta efeitos pronunciados sobre a pele, pode induzir ao envelhecimento precoce e ao desenvolvimento de câncer (FLOR et al., 2007; CASTRO 2011; SUVA et al., 2014; LEITE FILHO et al., 2016).

A preocupação em proteger a pele frente às manifestações causadas pelas radiações UV tem aumentado nos últimos anos. Atualmente, o uso de protetores solares é a alternativa mais eficaz contra os efeitos danosos causados pelos raios UV, inclusive contra o câncer de pele e o envelhecimento precoce (MANAIA et al., 2013). Os protetores solares são classificados em inorgânicos (filtros físicos) e orgânicos (filtros químicos). Os agentes inorgânicos ou físicos atuam como barreira formada pelo filme sobre a pele, refletindo, dispersando ou absorvendo os raios UV. Os compostos ZnO<sub>2</sub> e TiO<sub>2</sub> são os maiores representantes (CABRAL et al., 2013). Os agentes orgânicos ou filtros químicos são substâncias hidro- ou lipossolúveis que protegem a pele, via absorção da radiação UV de alta energia, com liberação da energia, na forma de calor. Os filtros orgânicos geralmente são classificados em filtros UVA e UVB. Podem ser sintéticos, como a benzofenona-3, ou naturais (constituintes químicos de óleos e extratos vegetais) (COSTA et al., 2015).

A eficácia do filtro solar é medida em função do seu fator de proteção solar (FPS), que estabelece o aumento do tempo à exposição solar, especialmente aos raios UVB, com o uso do produto aplicado sem a ocorrência de eritema (COSTA et al., 2015; NASCIMENTO et al., 2014; DONGLIKAR et al., 2016). O fator de proteção solar apresentado pelo filtros pode ser determinado por métodos *in vivo* e *in vitro*. No Brasil, a Agência de Vigilância Nacional (ANVISA) determina que o FPS de um protetor solar seja medido, seguindo os métodos *in vivo*, aplicando estritamente as metodologias descritas pelos órgãos de outros países como: FDA (*Food and Drug Administration*)

nos Estados Unidos, COLIPA (*European Trade Association representing Cosmetic Industry*), JCIA (*Japan Cosmetic Industry Association*). O ensaio *in vivo* é indispensável, no entanto, possui custo elevado e deve ser aplicado em último estágio na bateria de testes de fotoproteção. Deste modo, ensaios *in vitro* têm sido utilizados na investigação de produtos fotoprotetores. O método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur et al (1968a) é o mais difundido para a determinação do FPS, pois apresenta boa correlação com o teste *in vivo* (Mansur et al., 1986b), além de ser rápido e reprodutível.

Diversos estudos têm relatado uma crescente preocupação em relação ao uso de fitos químicos sintéticos como por exemplo, a benzofenona-3, que é um filtro químico comercial muito utilizado em protetores solares. Apresenta um amplo espectro de proteção (UVB/UVA), no entanto, pode penetrar através da barreira epidérmica e causar dermatite de contato (NEDOROST et al., 2003). Atualmente, o emprego de extratos vegetais como ingredientes em formulações fotoprotetoras tem sido bastante explorado, uma vez que estes extratos apresentam em sua composição compostos fenólicos que possuem a capacidade de absorver um amplo espectro de radiação UV, diminuindo assim a penetração dessas radiações na pele, minimizando os efeitos nocivos envolvidos nos processos de envelhecimento precoce, capturaram espécies reativas de oxigênio (EROs) gerados pelos raios UV, causados pela exposição excessiva ao sol e atuam estabilizando formulações com filtros químicos associados ou não. Além disso, esses compostos atuam como inibidores de glicação de proteínas, reação não enzimática, que se dá no meio biológico ou em alimentos, e ocorre entre o grupo carbonila de açúcares redutores como glicose e frutose, com o grupo amino livre de biomoléculas. O processo de glicação gera produtos de glicação avançada (AGEs), que estão relacionados a diversas doenças e podem causar danos teciduais por meio de alteração da conformação de moléculas bioativas como por exemplo, o colágeno principal proteína fibrosa na matriz extracelular responsável pela sustentação da pele (SUVA et al., 2014; AGATI et al., 2013; SAEWAN et al., 2013; STEVANATO et al., 2014; CARVALHO et al., 2015; ZILLICH et al., 2015; BARBOSA et al., 2016).

Nesse contexto, as espécies *Cocos nucifera* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi (conhecida popularmente como pimenta rosa) apresentam potencial a serem utilizadas como ingredientes em formulações antioxidante e fotoprotetora. Estudos com extratos das fibras das cascas do coco relataram que as fibras apresentaram em

sua composição compostos como, fenóis, flavonóides, taninos, triterpenos e alcaloides. Estes constituintes exercem importantes atividades biológicas, tais como, antimicrobiana (SILVA et al., 2013), anti-inflamatória (SILVA et al., 2013); antiviral (ESQUENAZI et al., 2002), antifúngica, antiplasmódica (ADEBAYO et al., 2013), sequestradora de radicais (ALVIANO et al., 2004), anti-neoplásica (KOSHEK et al., 2007), antioxidante (OLIVEIRA et al., 2013) e antidepressiva (LIMA et al., 2016). Já a pimenta rosa apresenta grande potencial terapêutico e se encontra inserida na Relação Nacional de Plantas Medicinais de (RENISUS), que registra 71 plantas medicinais que apresentam o potencial para gerar produtos de interesse para o Sistema Único de Saúde (SUS). Diversas partes desta árvore tropical (folhas, cascas, sementes, óleo) têm sido utilizadas na medicina popular de vários países. Estudos fitoquímicos realizados com a espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi evidenciaram a presença de metabólitos secundários como os fenóis, flavonóides, triterpenos, antraquinonas, esteroides e taninos. A presença desses constituintes, em diversas partes da planta (folhas, caule, frutos, sementes), exercem importantes atividades biológicas, tais como, antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, citotóxica, antiproliferativa (SANTANA et al., 2012; MACHADO et al., 2014; PAGANI et al., 2014; GLÓRIA et al., 2017; BARTOLOMEU et al., 2017). Assim, apesar do crescente número de estudos realizados com os extratos de fibra de coco, e de casca e frutos de pimenta rosa, no sentido de uma possível aplicação farmacológica, estudos em relação ao potencial fotoprotetor e antiglicante são raros.

Diante do papel que compostos bioativos podem desempenhar frente aos danos gerados pelas radiações UV, pelo estresse oxidativo e carbonílico, o desenvolvimento de estudos que forneçam substâncias que exerçam potencial fotoprotetor, antioxidante e antiglicante, se torna de grande importância. Deste modo, as fibras de *Cocos nucifera* L e cascas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, se apresentam como uma fonte alternativa de produtos naturais, com grande potencial terapêutico, e o aproveitamento desses resíduos, através da investigação dessas atividades, é de grande relevância biotecnológica e motiva o presente trabalho.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Avaliar as capacidades antioxidante e antiglicante e o potencial fotoprotetor dos extratos etanólicos das fibras da casca do coco da variedade anão amarelo e das cascas e do fruto de pimenta rosa, visando o aproveitamento desses extratos como ingredientes ativos em formulações cosméticas/farmacêuticas.

### 2.2 Específicos

- Obter os extratos etanólicos das fibras das cascas do coco anão amarelo, das cascas e frutos de pimenta rosa;
- Avaliar o conteúdo total de fenóis e a capacidade redutora dos extratos etanólicos das fibras das cascas do coco anão amarelo, das cascas de pimenta rosa e do fruto de pimenta rosa, utilizando os métodos de Folin-Ciocalteu, DPPH e FRAP;
- Avaliar a capacidade antiglicante dos extratos etanólicos das fibras das cascas do coco anão amarelo; das cascas e frutos de pimenta rosa;
- Avaliar a viabilidade de macrófagos J774 em presença do extrato etanólico das fibras das cascas do coco anão amarelo, e efeito dos extratos de pimenta rosa sobre a viabilidade celular da linha HTR-8SV/neo;
- Identificar os compostos orgânicos presentes nos extratos etanólicos das fibras das cascas do coco anão amarelo, das cascas e dos frutos de pimenta rosa, utilizando a técnica de HPLC;
- Avaliar o potencial fotoprotetor dos extratos etanólicos das fibras das cascas do coco anão amarelo, das cascas e dos frutos de pimenta rosa;
- Preparar formulações protetoras a partir da incorporação dos extratos etanólicos de fibras das cascas do coco anão amarelo, das cascas e dos frutos de pimenta rosa;
- Avaliar a fotoestabilidade dos extratos e formulações;
- Avaliar a estabilidade normal das formulações.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Radiação ultravioleta (UV)

O sol representa a principal fonte de energia do planeta, possui cerca de 5 bilhões de anos e se situa a 93 milhões de quilômetros da Terra. A energia é emitida sob a forma de radiação de natureza eletromagnética, ou onda eletromagnética, que se apresenta dividida em três intervalos principais, de acordo com seu comprimento de onda: ultravioleta (UV) (100-400 nm), visível (VIS) (400-800 nm), e infravermelho (IV) (> 790 nm)) (Figura 1). A soma dos intervalos de comprimento de onda dessas radiações forma o espectro solar na superfície da terra. Estes se encontram distribuídos nas seguintes proporções: 5% no UV, 50% no Vis e 45% no IV (COSTA et al., 1995; SVOBODOVA et al. 2010)

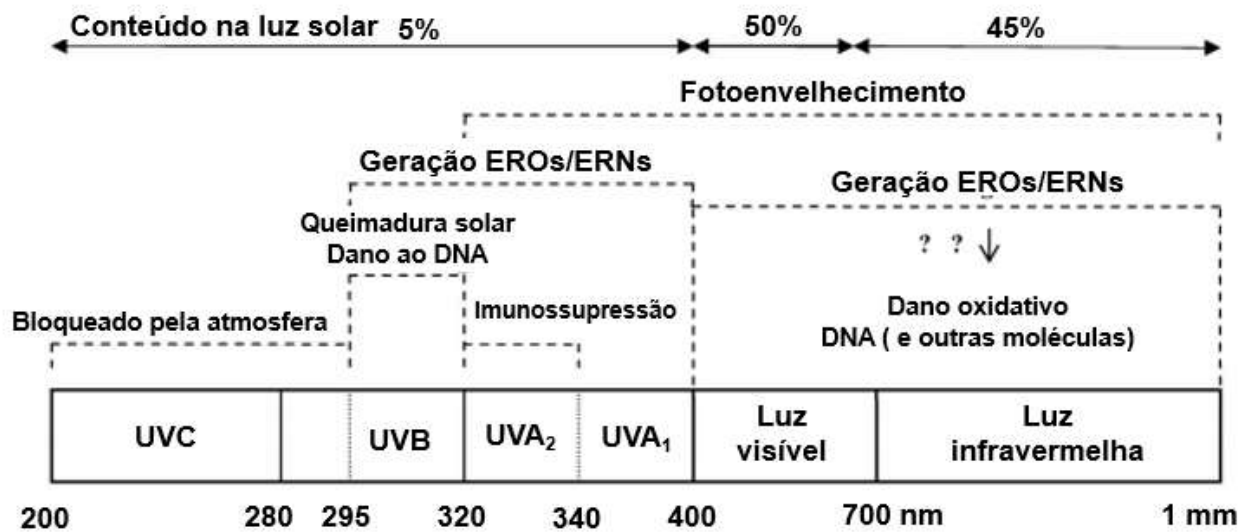
A radiação eletromagnética emitida pelo sol é caracterizada por duas grandezas: o comprimento de onda ( $\lambda$ ) e a frequência ( $\nu$ ). Essas duas grandezas se relacionam por meio da expressão  $\nu = hc / \lambda$ . Onde,  $c$  é velocidade da luz no vácuo ( $3,0 \times 10^{10}$  cm/s),  $h$ , a constante de Planck ( $6,63 \times 10^{-34}$  J s), usada para indicar a energia e a frequência das radiações eletromagnéticas. Ela representa o quantum, que é a quantidade de energia emitida em porções muito pequenas. Trata-se de uma das constantes mais importantes da Física Quântica. A equação de Plank (Equação 1), define que quanto menor o comprimento de onda ( $\lambda$ ), maior a quantidade de energia ( $E$ ) transportada.

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad \text{Equação 1}$$

A radiação UV compreende uma faixa do espectro eletromagnético entre 100 e 400 nm, dependendo do comprimento de onda, a luz UV se encontra subdividida em 3 regiões diferentes e específicas: UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (100-280 nm). Sua intensidade depende de alguns fatores como: altitude, latitude, estação do ano, período do dia e condições meteorológicas (GASPARRO et al., 1998; LADEIRA et al., 2013; SILVA et al., 2015).

As radiações UVA e UVB são as mais relevantes à pele, devido aos efeitos adversos que estas podem causar ao tecido cutâneo. A radiação UVC mais nociva e energética é retida pela camada de ozônio.

Figura 1 - Espectro de radiação solar



Fonte: Adaptado de SVOBODOVÁ et al., 2010.

### 3.2 Pele e efeitos da radiação UV

A pele é o maior órgão do corpo humano, sendo responsável pela proteção dos organismos, como uma defesa física, química e imunológica, contra os raios UV, perda de água, e possui uma alta capacidade de regeneração e recuperação (KAMMEYER et al., 2015).

A pele se apresenta dividida por três camadas de tecido, a epiderme (camada mais externa), derme (camada intermediária) e hipoderme (camada mais profunda)

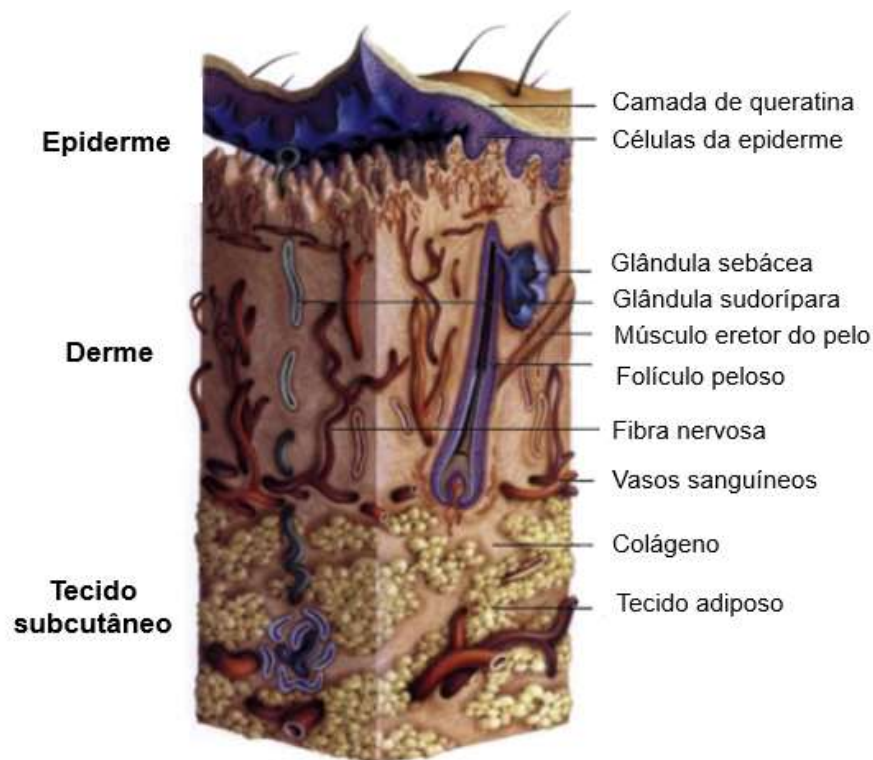
A epiderme é camada mais externa do corpo, sendo formada pelo tecido epitelial. O estrato córneo é a camada mais superficial da epiderme, e é composta por células mortas ricas em filamentos de queratina, atua na proteção contra agentes agressores externos e funciona como uma barreira para retenção de água e resistência. Além dos queratinócitos, células epiteliais estratificadas presentes na epiderme, outras células também estão presentes, como os melanócitos que atuam sintetizando a melanina, substância responsável pela pigmentação da pele, que desempenha papel de proteção contra a radiação UV, absorvendo e refletindo os raios que ultrapassam a camada córnea (CASTRO et al., 2014).

Após a epiderme, encontramos a derme. Ela é formada por um tecido conjuntivo denso, por onde ocorre a circulação sanguínea, e é composta de colágeno,

elastina e fibroblastos. Apresenta função de sustentação, elasticidade e resistência da pele, defesa contra os micro-organismos e nutrição da epiderme (PÉREZ-SÁNCHEZ et al., 2018).

A hipoderme é um tecido subcutâneo, conectivo frouxo, com grande número de células adiposas, importantes na ligação com tecidos mais profundos. É responsável pelo armazenamento de nutrientes, absorção de impacto, atua como reserva energética e é fonte de queratinócitos, quando ocorre a destruição da epiderme (COSTA et al., 2015; TANG et al, 2010).

**Figura 2 - Estrutura da pele**

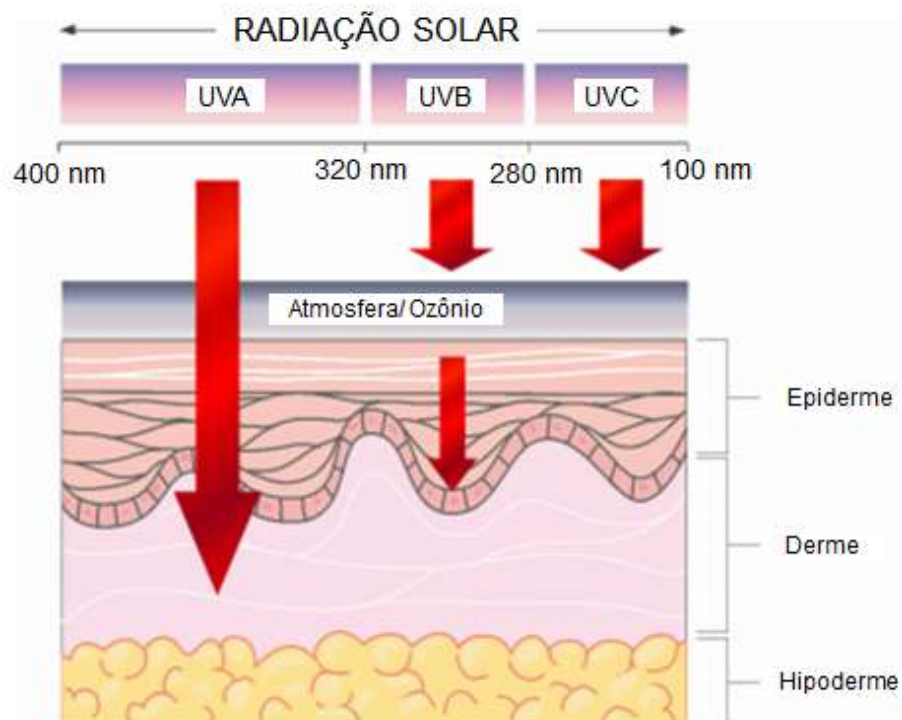


Fonte: Adaptado de TANG et al., 2010.

A radiação UV pode interagir com moléculas (cromóforos) em diferentes camadas da pele. Essas interações podem ocasionar efeitos benéficos ou danosos, dependendo do comprimento de onda, exposição à radiação e fontes de UV. Os efeitos benéficos incluem a síntese de vitamina D, que exerce o papel de importante regulador da fisiologia osteomineral, em especial do metabolismo do cálcio e no tratamento de diferentes patologias na pele, tais como a psoríase e o vitiligo (CASTRO

et al., 2011; PÉREZ-SÁNCHEZ et al., 2018). A exposição aos raios UV é um dos principais fatores causadores de alterações no tecido cutâneo, pelo seu poder de penetração no extrato córneo afetando o processo de renovação celular e a perda da elasticidade. O poder de penetração na pele depende do tipo de interação que ocorre entre o meio e o fóton de luz. Se tratando da pele, quanto maior o comprimento de onda, maior o grau de penetração (Figura 3).

**Figura 3 - Capacidade de penetração dos raios UV nas camadas da pele.**



Fonte: Adaptado de PÉREZ-SÁNCHEZ et al., 2018.

A radiação UVA é a mais abundante da superfície da terra correspondendo a 95%, possui alto comprimento de onda e baixa energia, um poder de penetração sobre a pele maior que a radiação UVB, atinge a derme, provoca alterações nos fibroblastos e desordem na matriz extracelular, conseqüentemente, gerando o processo de fotoenvelhecimento cutâneo e câncer de pele. O fotoenvelhecimento é um processo cumulativo que dependendo do grau de exposição aos raios UV e da pigmentação cutânea, a pele envelhecida apresenta características como atrofia, enrugamento de coloração amarelada (diminuição dos vasos sanguíneos), perda da elasticidade e



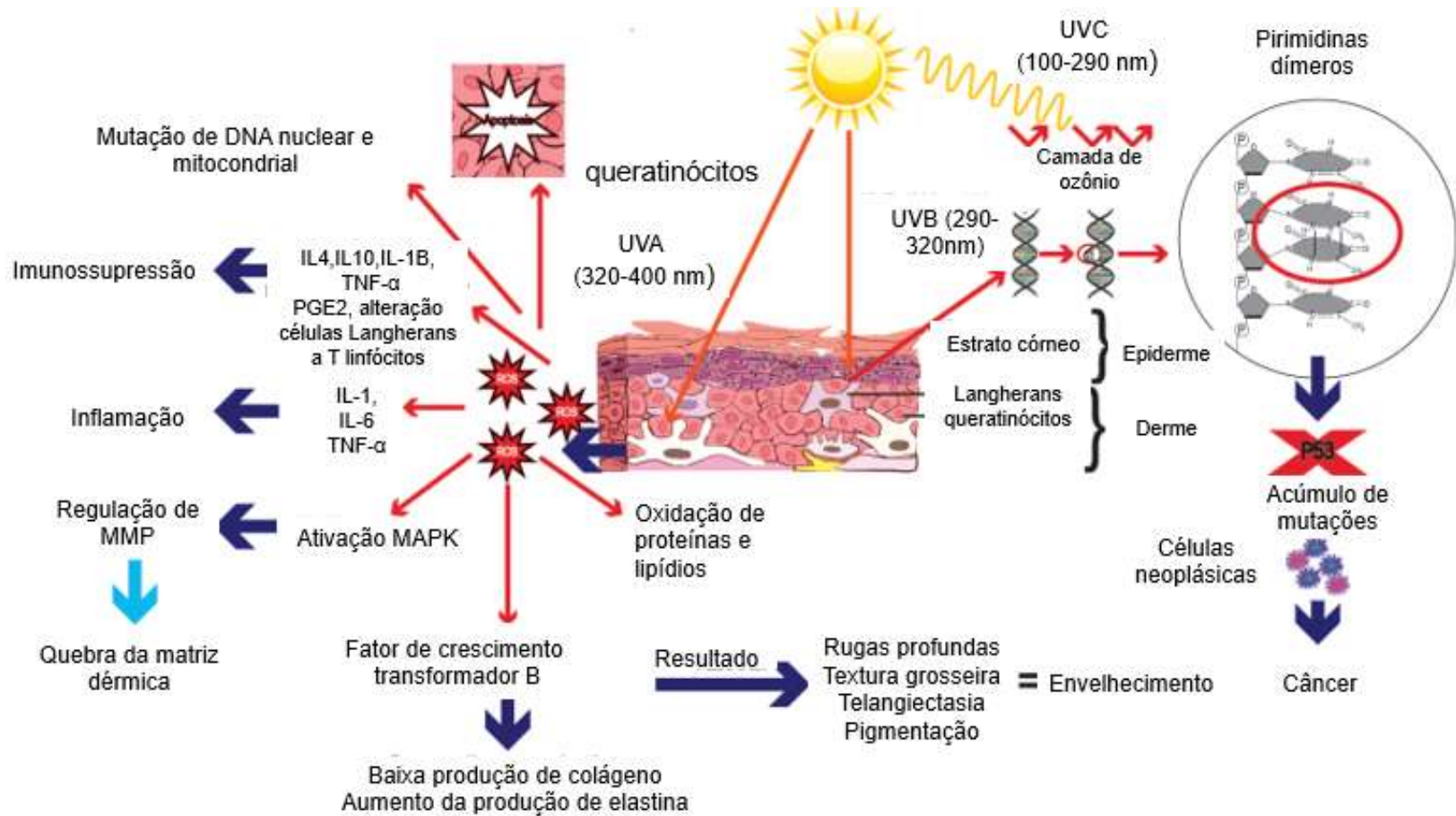
aparecimento de lesões cancerígenas (KRUTMANN et al., 2017). Esta radiação causa, ainda, efeitos danosos sobre as moléculas de DNA por meio da ação das espécies reativas de oxigênio (EROs) (incluindo radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ânion radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), resultando na degradação da molécula, além de induzir processos inflamatórios, estresse oxidativo e enrugamento da pele (MESA-ARANGO et al., 2017).

A radiação UVB possui uma menor incidência sobre a superfície terrestre (5%), apresenta menor comprimento de onda em relação à UVA e menor poder de penetração sobre a pele. No entanto, os raios UVB são intensamente absorvidos pela camada epidérmica devido à sua alta energia, e seus efeitos são mais prejudiciais, e estão associados ao quadro de eritema, queimaduras solares e envelhecimento precoce. O DNA é uma das principais moléculas que absorvem os raios UVB, estes raios afetam diretamente a epiderme induzindo lesões na molécula de DNA, como a formação de ciclobutanos de pirimidinas (CPDs) e os fotoprodutos pirimidina-pirimidona (6-4PPs). Estes por sua vez, promovem grandes distorções na estrutura do DNA, o que compromete os mecanismos vitais como replicação e transcrição, e induz mutações em genes supressores de tumor, como o p53, alterando o controle do ciclo celular. Essa alteração provoca o aumento do risco da transformação de queratinócitos e melanócitos, que possivelmente se manifestam como tumores de pele (PÉREZ-SÁNCHEZ et al., 2018).

A radiação UVC não atinge a superfície da terra, pois, são bloqueadas pela camada de ozônio estratosférica. Essas radiações são altamente energéticas e extremamente lesivas aos seres vivos (AFAQ, 2011; GREGORIS et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2014

A Figura 4, apresenta os principais eventos induzidos pelas radiações UVA e UVB.

Figura 4 - Principais efeitos causados pelos raios UV



IL -1,4,6,10, 1B = Interleucinas 1,4,6,10 e 1 beta	MMP = Metaloproteínases da matriz
TNF-α = Fatores de necrose tumoral – alfa	MAPK = Proteína-quinases ativadas por mitógenos
PGE2 = Prostaglandina E2	

Fonte: Adaptado de MESA-ARANGO et al., 2017.

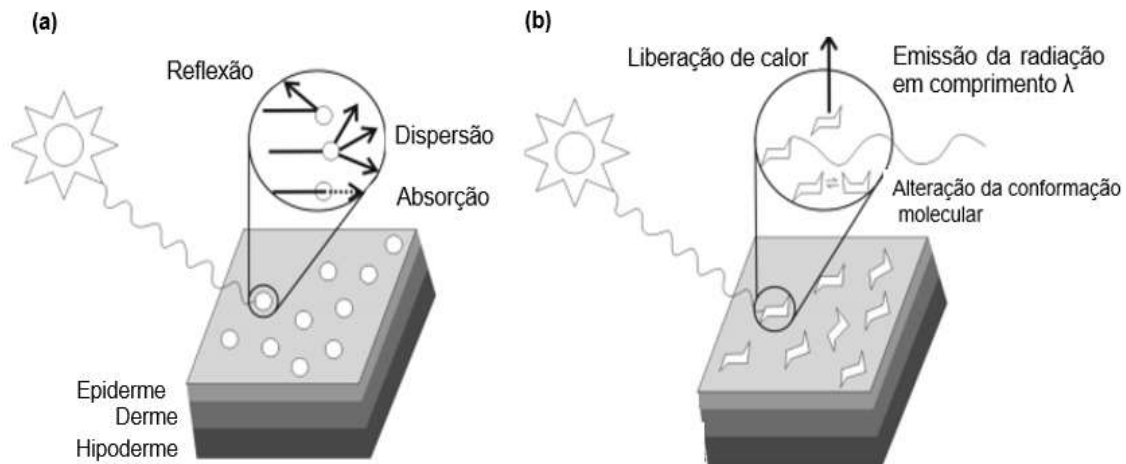
### 3.3 Fotoproteção

A preocupação em proteger a pele frente às manifestações causadas pelas radiações UV tem aumentado cada vez mais, principalmente em países tropicais, onde as radiações UVB e UVA são mais intensas (MANAIA et al., 2013). Diversas medidas preventivas têm sido utilizadas contra os efeitos danosos causados pelos raios solares, tais como, o uso de chapéu, óculos específicos para proteção solar, vestimentas especiais, exposição segura ao sol, o uso frequente de fotoprotetores. Atualmente, o uso de protetores solares é a alternativa mais eficaz contra os efeitos danosos causados pelos raios UV, inclusive contra o câncer de pele e envelhecimento precoce da pele. De acordo com a RDC nº 30, de junho de 2012 determinada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), um protetor solar é definido como qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com pele e lábios, com a finalidade exclusiva ou principal de protegê-la contra a radiação UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação (ANVISA, 2012).

#### 3.3.1 Filtros solares

Os protetores solares apresentam em sua composição, substâncias denominadas como filtros solares. Segundo Flor e colaboradores (2007), dependendo do mecanismo de ação e de sua natureza, as substâncias fotoprotetoras são classificadas em inorgânicas (filtros físicos) e orgânicas (filtros químicos). Os agentes inorgânicos ou físicos atuam como barreira formada pelo filme sobre a pele, refletindo, dispersando ou absorvendo os raios UV (Figura 5 (a)). Os óxidos  $ZnO_2$  e  $TiO_2$ , representam as substâncias inorgânicas fotoprotetoras e apresentam excelente proteção contra a radiação UV. São impermeáveis e considerados potencialmente seguros devido ao seu baixo índice de irritabilidade sobre a pele, indicados para formulações de produtos infantis e indivíduos com pele sensível. No entanto, de acordo com o tamanho de partículas dos óxidos utilizados como fotoprotetores, o produto pode deixar uma película esbranquiçada sobre a pele, o que torna do ponto de vista estético, desagradável. Uma das alternativas recentes para a resolução deste problema na tecnologia dos filtros inorgânicos, é o uso da nanotecnologia aplicada a fotoproteção, na qual, micropartículas são produzidas a partir desses óxidos, não deixando partículas perceptíveis na pele (BAILLO et al., 2012; CABRAL et al., 2013).

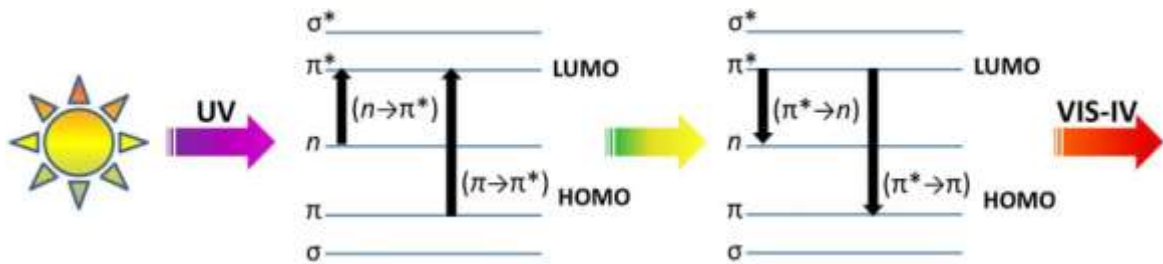
**Figura 5 - Modo de ação dos filtros UV inorgânico (a) e orgânico (b)**



Fonte: Adaptado de MANAIA et al., 2013.

Os agentes orgânicos ou filtros químicos são substâncias hidro ou lipossolúveis que protegem a pele por meio da absorção da radiação UV de alta energia e a transformam em radiações de energia menores e inofensivas ao ser humano (Figura 5(b)). Estes agentes são compostos aromáticos conjugados com grupos carboxílicos, e geralmente possuem grupos funcionais doadores de elétrons (metoxila e amina), situados nas posições *orto* ou *para* do anel. Podem ser naturais (óleos e extratos vegetais) ou sintéticos. O mecanismo de ação consiste em ao absorver a radiação UV, os elétrons situados no orbital ocupado de maior energia,  $\pi$  HOMO, são excitados para o orbital molecular desocupado de menor energia  $\pi^*$  LUMO. Durante o retorno do elétron ao estado fundamental, o excesso de energia é liberado na forma de calor (Figura 6). A radiação UV absorvida apresenta energia exatamente igual à diferença de energia entre o HOMO e LUMO (NASCIMENTO et al., 2014; COSTA, 2015).

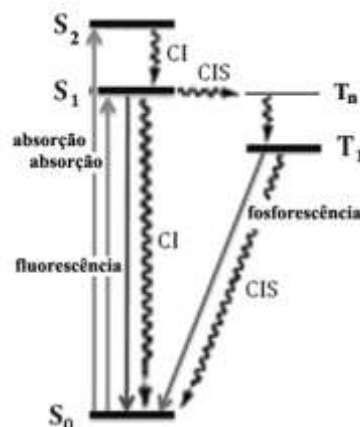
**Figura 6 - Esquema do processo de absorção UV pelos filtros orgânicos e conversão em luz no VIS e no IV.**



Fonte: NASCIMENTO et al., 2014.

Átomos ou moléculas podem emitir a energia absorvida quando elétrons, no estado excitado, decaem ao estado fundamental. O diagrama de Perrin Jablonski (Figura 7) apresenta o processo de formação e desativação dos estados excitados das moléculas. A dissipação do excesso de energia pode ocorrer por processos não radiativos (são as linhas tracejadas) ou processos radiativos (são as linhas contínuas verticais). Nos processos não-radiativos, a dissipação de energia dá-se pela liberação de calor e os radiativos pela emissão de luz. À temperatura ambiente, a maioria das moléculas, mantém-se no estado fundamental ( $S_0$ ). A absorção de luz pode levar as moléculas para os níveis vibracionais excitados de  $S_1$ ,  $S_2$  ou  $S_3$ . Uma vez excitados, a dissipação da energia e a desativação dos estados excitados se dá por vários processos, como conversão interna, fluorescência, cruzamento inter-sistemas e fosforescência (SKOOG, 2002).

**Figura 7 - Diagrama de Perrin Jablonski**

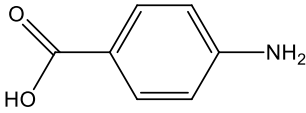
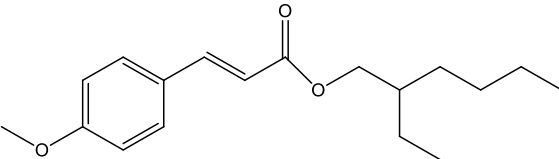
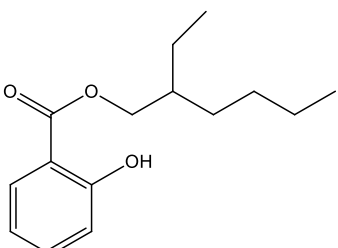


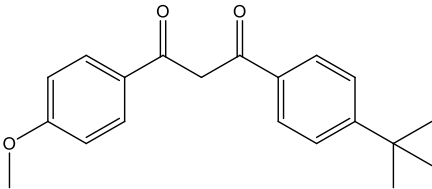
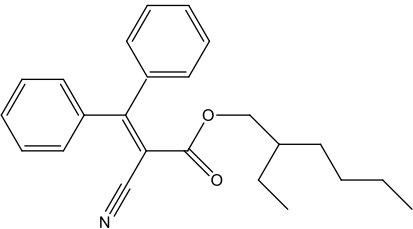
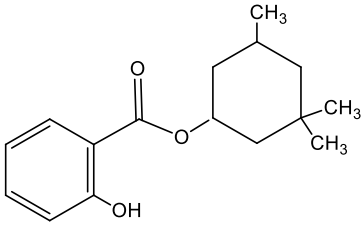
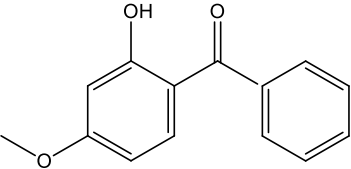
Fonte: adaptado de SKOOG, 2002.

Os filtros orgânicos geralmente são classificados em filtros UVA e UVB, dependendo da região de proteção UV, e aqueles de amplo espectro que protegem em ambas as radiações (BALOGH et al, 2011; SILVA et al., 2015). Dentre os filtros químicos usados comercialmente capazes de absorver a radiação UVA (320 - 400), destacam-se as avobenzona, antralinas e a benzofenona. Já, os filtros capazes de absorver a radiação UVB (290 - 320) são o ácido *para*-aminobenzóico (PABA), cinamatos e salicilatos. (CRIADO et al., 2012; SILVA et al., 2015).

A Tabela 1 apresenta os principais fotoprotetores orgânicos utilizados em formulações protetoras e suas faixas de absorções UV.

**Tabela 1 - Fotoprotetores orgânicos e faixas de absorções no UV.**

Nomenclatura e estrutura	Faixa de proteção (nm)	Proteção UV
<p>Ácido <i>p</i>-aminobenzóico (PABA)</p> 	260 – 313	UVB
<p>4-Metoxicinamato de 2-etilexila (Metoxicinamato de octila)</p> 	270 - 328	UVB
<p>Salicilato de 2-etilexila (Salicilato de octila)</p> 	310	UVB

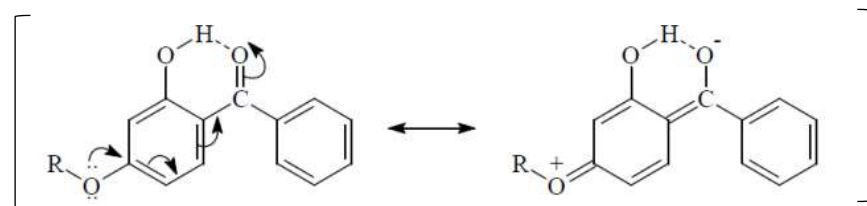
Nomenclatura	Faixa de proteção (nm)	Proteção UV
1-(4- <i>t</i> -Butilfenil)-3-(4-metoxifenil)-1,3-propadiona (Avobenzenona)	310 - 400	UVA
		
Octocrileno	303	UVB
		
Homossolato	330	UVA
		
2-Hidroxi-4-metoxibenzofenona Benzofenona-3	288 – 335	UVB / UVA
		

Fonte: Adaptado de WANG et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2014; VINHAL et al., 2016.

Dentre os filtros químicos listados na Tabela 1, a benzofenona-3, também conhecida como oxibenzona ou 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona, é um dos filtros mais empregados em preparações protetoras. A benzofenona-3, filtro químico comercial utilizado como padrão nesse trabalho, se apresenta como uma cetona aromática com

a capacidade de absorver radiações UVB e UVA, de difícil solubilização em água (característica lipofílica) e apresenta uma boa estabilidade, é utilizada em formulações cosméticas e componentes de embalagens plásticas de alimentos (COSTA, 2015; GONZALEZ et al., 2017). Sua estrutura química é formada por dois anéis aromáticos com diferentes substituintes, e a deslocalização dos elétrons por ressonância é uma das causas estruturais para sua reatividade (Figura 8), acrescida pela presença de grupamentos doadores de elétrons nas posições *orto-para*, com participação do grupamento carbonila que participa comoceptor de elétrons. Esses compostos sofrem ressonância mais facilmente, requerendo uma menor energia quântica para a transição eletrônica. Considerando que a energia é inversamente proporcional ao comprimento de onda, logo, esses compostos irão absorver também em comprimentos de onda acima de 320 nm (ROOGIA et al., 2014; ABID et al., 2017).

**Figura 8 - Híbridos de ressonância da benzofenona**



Fonte: COSTA, 2015.

Na aplicação de filtro solar de uso tópico, é necessário que o mesmo permaneça nas camadas mais superficiais da pele, a fim de garantir a proteção máxima, sem que ocorra exposição sistêmica. No entanto, filtros como a benzofenona-3, podem penetrar através da barreira epidérmica e causar dermatites de contato. Estudos relatam a presença de benzofenona-3 e seus metabólitos em urinas de humanos, após um período de 48 h da aplicação na pele, de cosméticos contendo benzofenona-3 em sua composição (NEDOROST et al., 2003; VIDAL et al., 2007; GONZALES et al., 2017). O processo de absorção sistêmica e toxicidade dos filtros UV, são intensamente debatidos, entretanto, torna-se necessária a realização de pesquisas que abranjam os fatores envolvidos em tais processos, a fim de elucidar o grau de absorção dos filtros UV e suas consequências.



### 3.3.2 Formulações fotoprotetoras

A incorporação do filtro solar a um veículo torna-se necessária para a disponibilização do fotoprotetor ao consumidor. A formulação de fotoprotetor não envolve apenas o uso de substâncias com características de reflexão e absorção, algumas características são exigidas para que o produto seja comercializado. Além dos fatores observados como a química e fotoquímica, as formulações protetoras devem apresentar características como: ser atóxico, não ser irritante ou mutagênico, ser fotoestável, não ser volátil, ser hidrorresistente, ser retido na superfície da pele (extrato córneo), ser compatível com o veículo escolhido (os ingredientes da formulação, de modo que, não ocorra descoloração da pele, dos cabelos, roupas e nem odores desagradáveis, com o recipiente de armazenamento, e ser econômico) (MILESI et al., 2002; FLOR et al., 2007). O protetor solar pode ser preparado a partir de diversos veículos como, creme e loções emulsionadas, loções hidro-alcoólicas, *sprays* e géis. Entretanto, a escolha deve ser adequada, de modo que a interação entre este e o filtro não interfira na estabilidade do produto e na sua eficácia.

De acordo com ANVISA (resolução nº 7/2015), no Brasil, os protetores solares são considerados cosméticos de grau 2, ou seja, possuem a capacidade de provocar reações adversas. Deste modo, são produtos que possuem indicação específica e necessitam comprovação de segurança e/ou eficácia, assim como informações sobre o cuidado, o uso e restrições (ANVISA, 2006). A RDC 47/2006 (BRASIL, 2006) determina que os protetores solares formulados com alguns filtros químicos sejam preparados, respeitando um limite máximo de concentração (3 e 15%), dependendo da natureza da substância, e para os filtros físicos é permitido até 25% da substância em produtos indicados com ação fotoprotetora. Além disso, a resolução determina que para ser considerado um protetor solar, o produto deve apresentar um FPS de no mínimo 6, esse valor representa uma proteção moderada recomendado ao fototipo de IV (pele branca/morena clara pouco sensível a eritema) (FITZPATRICK, 1976).

A Tabela 2 apresenta alguns filtros solares permitidos pela ANVISA de acordo com a resolução (BRASIL, 2006).

**Tabela 2 - Filtros solares regulamentado de ANVISA.**

<b>Nome (INCI)*</b>	<b>Proteção (UV)</b>	<b>Concentração Máxima (%)</b>
PABA	UVB	15
Etil-hexildimetil PABA	UVB	8
Benzofenona-3	UVB / UVA	10
Metoxicinamato de octila	UVB	10
Salicilato de octila	UVB	5
Homossalato	UVB	15
Octocrileno	UVB	10
Dióxido de titânio	UVB / UVA	25
Oxido de zinco	UVB / UVA	25

INCI = *International nomenclature of cosmetics ingredients*.

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2006.

Atualmente, uma nova tendência no mercado é o preparo de formulações utilizando associações de diferentes filtros (UVA, UVB, filtros físicos ultrafinos ou micronizados, extratos e óleos vegetais), visto que, a maioria dos filtros solares absorve apenas parte da região UV (UVA ou UVB). Essa combinação de filtros surge como uma alternativa para incrementar a proteção solar, isto é, tornando-a de amplo espectro. Além disso, proporciona uma maior estabilidade fotoquímica aos filtros. Dentre os filtros orgânicos presentes na Tabela 2, os que se destacam nessa prática, são a benzofenona-3 em associação com o metoxicinamato de octila, e o octocrileno, em associação com a avobenzona (NASCIMENTO et al., 2014; BALOGH et al., 2011).

### **3.3.3 Avaliação da eficácia das formulações fotoprotetoras**

A eficácia de uma formulação protetora é universalmente medida em função do seu Fator de Proteção Solar (FPS). Este fator estabelece o tempo de exposição à radiação solar com o produto fotoprotetor aplicado sobre a pele, sem a ocorrência de eritema, ou seja, quanto maior o FPS, maior será o tempo permitido para uma exposição segura frente às radiações UVB. Ressalta-se que o FPS é definido em função da radiação UVB causadora de eritemas (FLOR et al., 2007; ANVISA, 2012).

No Brasil, a avaliação do FPS regulamentada pela ANVISA por meio da RDC 30/2012, em acordo com o Mercado Comum do Sul (MERCOSUL), determina que o

FPS de um protetor solar seja realizado seguindo os métodos *in vivo*, aplicando estritamente as metodologias descritas pelos órgãos regulamentadores de outros países como: FDA, Unidos, COLIPA e JCIA (VELASCO et al., 2011; BALOGH et al., 2016). Já, a determinação do nível de proteção UVA (FPUVA) deve ser realizada conforme as metodologias *in vivo European Commission – Standardization Mandate Assigned to CEN Concerning Methods for Testing Efficacy of Sunscreen Products – 2006 Annex 2* - baseadas nos princípios recomendados pela JCIA (*PPD method published 15.11.1995*)

O ensaio para a avaliação do FPS *in vivo* é realizado com voluntários sadios (mínimo de 25 voluntários) para se obter um teste estatisticamente significativo e com tipos de pele I, II e III (pele muito sensível, sensível e normal), respectivamente, de acordo com a classificação dos fototipos cutâneos denominada como escala de Fitzpatrick de 1976 (KEDE; SABATOWICH, 2004).

O padrão utilizado pelo FDA é uma formulação contendo 8% de homossalato com FPS de 4,47. A quantidade padronizada de produto aplicada deve ser de 2 mg cm<sup>-2</sup> em uma área mínima de 50 cm<sup>2</sup>, sob irradiação simulada (94% de 290 – 400 nm) com lâmpada no UV de 300 W, 20 min após aplicação do produto (ANVISA, 2012; SHALKA et al., 2014). O FPS pode ser calculado através da Equação 2:

$$FPS = \frac{DME \text{ (pele com proteção)}}{DME \text{ (pele sem proteção)}} \quad \text{Equação 2}$$

Onde: DME = dose mínima eritematosa, observada entre 16 e 24 h após a exposição UVB.

Para a avaliação do FP-UVA, o método *in vivo* mais comumente utilizado é o PPD (do inglês *Persistent Pigment Darkening*), este método é similar ao ensaio de FPS, entretanto, utiliza-se pelo menos 10 voluntários de fototipos II e IV, e esta técnica se baseia na resposta de pigmentação tardia ou persistente da pele frente à radiação UVA (320 – 400 nm), após período de exposição de 2 a 4 h a radiação simulada (15 J cm<sup>-2</sup>) (VELASCO et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2014).

### 3.3.3.1 Métodos *in vitro* para a determinação do FPS

A utilização dos métodos *in vivo* na avaliação do FPS é a maneira mais precisa e imprescindível na avaliação de uma formulação fotoprotetora, porém deve ser aplicada na fase final de uma bateria de testes de fotoproteção, devido à sua complexidade, à necessidade de voluntários, de profissionais especializados e apresentam um custo elevado para a realização (LEITE FILHO et al., 2016).

A aplicação das metodologias *in vitro* apresenta algumas vantagens na triagem do desenvolvimento das formulações protetoras como, por exemplo, a não exposição dos voluntários aos riscos causados pelos raios UV e facilidade no treinamento do operador (VELASCO et al., 2011). O ensaio *in vitro* poder ser reproduzido por meio de técnica espectrofotométrica, que se baseia na análise do espectro de absorção ou transmissão da radiação UV. Dentre os métodos espectrofotométricos, o ensaio desenvolvido por Mansur e colaboradores (1986a), é o mais difundido e se destaca por apresentar uma boa correlação ao teste *in vivo* (SANTOS et al., 1999), além da agilidade e reprodutibilidade. Este método se baseia na diluição do filtro solar em solventes apropriados (álcool ou éter) e a posterior avaliação espectrofotométrica na faixa de 290 a 320 nm (espectro na região UVB), com intervalos de 5 nm. Em seguida, utiliza-se a equação 3 apresentada a seguir:

$$FPS = CF \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot 2 \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda) \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

CF = fator de correção (igual a 10),

EE ( $\lambda$ ) = efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda ( $\lambda$ )

I ( $\lambda$ ) = intensidade da luz solar no comprimento de onda ( $\lambda$ )

Abs ( $\lambda$ ) = medida espectrofotométrica da absorvência da solução proposta como filtro solar.

A relação entre EE x I apresenta valores constantes em cada comprimento de onda e encontra-se descrita na Tabela 3 (SAYRE et al., 1979).

**Tabela 3 - Relação entre o efeito eritematogênico e a intensidade de radiação em cada comprimento de onda.**

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

Fonte: SAYRE et al., 1979; Mansur et al., 1986.

Diversos estudos têm utilizado a técnica *in vitro* por espectrofotometria, na comparação e orientação na determinação do FPS antes da aplicação dos testes *in vivo* (MANSUR et al., 1986b; COSTA et al., 2015; OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2017).

No trabalho de Ferrari e colaboradores (2007), foi realizado um estudo para a determinação do FPS *in vitro* utilizando o método de Mansur (1986), e *in vivo* (método da FDA), em emulsões contendo 3,75% (m/m) do filtro comercial metoxicinamato de etilexila, aditivadas ou não com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*) a 11,5% (m/m). Os autores relataram que ambas as formulações apresentaram pelos testes *in vitro* e *in vivo* FPS 6, demonstrando uma boa correlação entre os resultados das metodologias utilizadas.

OLAYEMI e colaboradores (2017) avaliaram o FPS de trinta ervas usadas para o preparo de chás classificados em (verde, preto e outros tipos) comumente consumidos na Nigéria. Os chás selecionados foram filtrados e diluídos em água a 20% (v/v). Em seguida, as soluções foram analisadas espectrofotometricamente e os valores de FPS foram calculados utilizando a equação de Mansur. Os valores de FPS determinados variaram entre 10,33 e 25,33, sendo os chás verdes com maiores valores de FPS, seguido dos chás pretos e outros tipos. Os autores concluíram que os chás analisados apresentam um grande potencial contra os raios UVB, e sugeriram o uso dos chás como ingredientes ativos em produtos fotoprotetores.

SINGH e colaboradores (2016) avaliaram o FPS de uma formulação fotoprotetora, preparada a partir da combinação de diferentes extratos de plantas, onde, a eficácia da formulação de ervas como protetores solares, foi determinada pelo método *in vitro* de Mansur (1986). Soluções hidroalcoólicas das formulações fotoprotetoras foram preparadas nas concentrações (0,5, 1, 5 e 10%) (m/v), e analisadas. Os valores de FPS obtidos variaram entre 2,14 e 12,97. Os autores definiram o método como simples e rápido nas análises de FPS.

Souza e colaboradores (2013) determinaram a atividade fotoprotetora de emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. (acerola), por meio do método de Mansur (1986a). As emulsões apresentaram absorções na região UVB, porém, obtiveram baixos valores de FPS, não podendo ser consideradas com potencial fotoprotetor, nas concentrações analisadas. Entretanto, as emulsões demonstraram capacidade antioxidante e se apresentaram estáveis aos ensaios de estabilidade e ação sinérgica na proteção da pele contra os danos induzidos pela radiação UV.

Wagemaker e colaboradores (2011), caracterizaram a fração lipídica e avaliaram a atividade fotoprotetora *in vitro* de dez espécies de café. Os resultados demonstraram a presença de ácidos graxos linoleico e oleico, amplamente utilizados nas indústrias de cosméticos, e encontraram valores de FPS em torno de 4. Segundo os autores, o óleo de café apresenta-se como um ingrediente ativo, em produtos cosméticos.

Para a determinação do valor de FP-UVA *in vitro*, o único método validado é o da determinação de comprimento de onda crítico ( $\lambda_c$ ), que se baseia no uso da espectroscopia UV acoplado com esferas de integração, onde, uma curva de absorbância do filme fino do filtro é determinada na faixa de 290 a 400 nm. Os valores de absorbância são somados a partir de 290 nm até que se obtenha 90% de absorbância total do produto no intervalo de 290 a 400nm. O comprimento de onda crítico ( $\lambda_c$ ), é definido como aquele onde a absorbância somada atinge 90% da absorbância total. Assim, para ser indicado como protetor UVA, deve apresentar valor de ( $\lambda_c$ ), maior que 370 nm. Quanto maior o valor ( $\lambda_c$ ), maior será a proteção UVA (VINHAL, 2016; DONGLIKAR et al., 2016).

Daher e colaboradores (2014), investigaram a atividade fotoprotetora de uma formulação preparada com extrato glicólico de açaí (*Euterpe oleracea*) e filtros sintéticos benzofenona-3, octocrileno e metoxicinamato de 2-etilexila. Neste estudo, a formulação apresentou FPS 25, FP-UVA 14,87 e comprimento de onda crítico 378 nm.

Os autores consideraram que a formulação pode atuar como filtro solar com proteção UVA e UVB.

### **3.4 Flavonóides e atividade fotoprotetora**

Os flavonóides constituem o maior grupo dos fenóis, são considerados os compostos fenólicos naturais mais importantes. São compostos de baixa massa molar, encontrados em ervas, frutas (cascas, polpas e suco), legumes, grãos, bebidas, e são parte integrante da dieta humana. Estes compostos desempenham importantes funções químicas e biológicas, na ecologia das plantas, tais como, proteção contra microrganismos, ação antioxidante, inibição enzimática, e principalmente a capacidade de absorver a radiação UVB, protegendo as plantas deste tipo de radiação solar, além de capturar as espécies reativas de oxigênio (EROs) gerados pelos raios UV, minimizando os efeitos nocivos causados pela exposição excessiva ao sol (SAEWAN et al., 2013; STEVANATO et al., 2014; ZILLICH et al., 2015).

A estrutura básica é composta por 15 átomos de carbono dispostos em uma configuração (C6-C3-C6). Essencialmente, a estrutura consiste em dois anéis aromáticos (A e B), unidos por uma ponte de 3 carbonos, geralmente um anel heterocíclico de pirano (C). Até o momento, mais de 4000 diferentes flavonóides já foram identificados em fontes vegetais, sendo as suas principais classes, os flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (catequinas), flavanonóis (diidroflavonóis), isoflavonas e antocianinas (Tabela 4). As classes de flavonoides estão baseadas no carbono da ligação do anel B com o anel C, e no padrão de oxidação e dos grupos funcionais do anel C (FRAGA et al., 2010; SAEWAN et al., 2013).

Os flavonóides apresentam diversas propriedades farmacológicas, e exibem ação sobre os sistemas biológicos, com efeitos anti-inflamatório, antimicrobiano, antiviral, vasodilatador, citotóxico, antioxidante (PROCHÁZKOVÁ et al., 2011; SANTOS et al., 2017). Além desses efeitos benéficos à saúde humana, uma outra atividade biológica atribuída aos flavonóides é a fotoproteção. Os mecanismos relacionados à capacidade fotoprotetora dos flavonóides consistem em atividades decorrentes de sua estrutura química. A absorção ultravioleta de um flavonóide é uma das premissas para a sua utilização na fotoproteção.

**Tabela 4 - Estrutura básica de flavonóides e principais classes, estrutura química e fontes de obtenção.**

<b>Estrutura básica de flavonóides</b>			
<b>Classes</b>	<b>Estruturas</b>	<b>Nomes</b>	<b>Fontes</b>
Flavonóis		Quercetina Rutina Miricetina Campeferol	Maçã, cerejas, uvas, caju, pitanga, cebola, alface, vinho tinto e fibra da casca de coco anão amarelo
Flavona		Cricina Apigenina Luteonina	Casca de frutas, salsa e aipo
Flavanonas		Narigina Taxofolina Hesperidina	Frutas cítricas
Flavanóis		Catequina Epicatequina Epigallocatequina	Chá verde, preto, uva, vinho tinto, chocolate e fibra da casca de coco anão amarelo
Isoflavonas		Genisteína, Daidzeína	Legumes e derivados de soja
Antocianinas		Cianidina Malvidina	Uvas roxa, morango, cereja, amora, repolho roxo e açaí

Fonte: Adaptado de EGERT et al., 2011.



O espectro de absorção dos flavonóides mostra, em geral, duas bandas com máximos de absorção: banda I entre 240 – 280 nm (correspondente ao anel A) e banda II em 300 – 550 nm (correspondente ao anel C), regiões que englobam UVB e UVA. A semelhança estrutural dos flavonóides com os filtros químicos, adicionalmente às suas propriedades antioxidantes e a similaridade entre seus espectros de absorção na região UV, possibilitam que tais compostos naturais sejam passíveis de exercer atividade fotoprotetora (VELASCO et al., 2008; KULLAVANIJAYA et al., 2005).

Devido à importância do uso de protetores solares frente aos efeitos nocivos das radiações UV como, o envelhecimento precoce e o câncer de pele, um grande número de compostos naturais vem sendo estudado, atualmente, em virtude das propriedades antioxidantes e fotoprotetoras que estes apresentam, visando uma proteção completa ou um possível incremento nos valores de FPS (MUKHERJEE et al., 2011; DONGLIKAR et al., 2016).

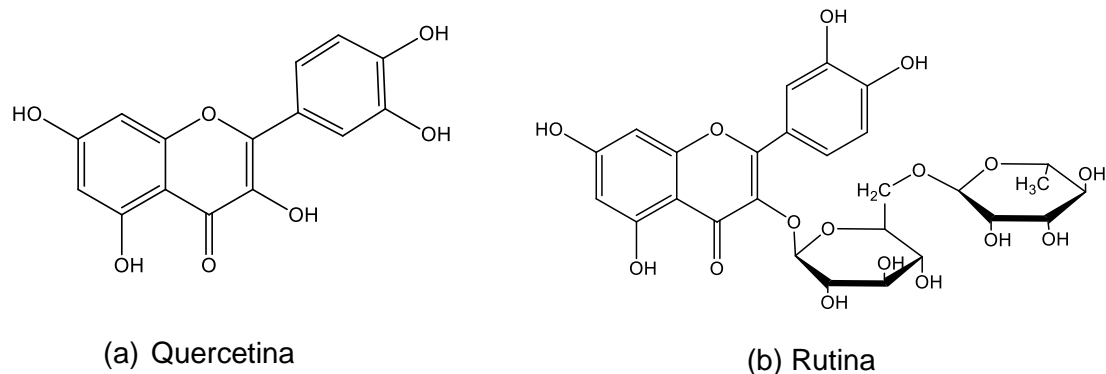
Os flavonóides quercetina e rutina, são os compostos naturais mais investigados com efeitos protetores contra a radiação solar usada em uma formulação protetora (CEFALI et al., 2016). A quercetina (3,5,7,3',4' – penta-hidroxi flavona) (Figura 9(a)) pertence à classe dos flavonóis, é o principal flavonóide encontrado na dieta humana, a partir dos alimentos. É uma substância lipossolúvel e pode conter moléculas de açúcar em sua estrutura. É um dos compostos antioxidantes mais eficazes, possui a capacidade de eliminar radicais livres e quelar metais de transição como os íons Fe (II) e Cu (II), impedindo que estes catalisem reações formadoras de radicais hidroxila, nas reações de Fenton (ALVES et al., 2010). Este flavonol absorve na região ultravioleta, assim esse composto pode ser considerado um fotoprotetor evitando danos ao DNA (FAHLMAN et al., 2009). A rutina (3-*o*-rutinosídeo-quercetina) (Figura (9b)), flavonol glicosídico, é tradicionalmente empregada como potente antioxidante, na prevenção ou tratamento da insuficiência venosa ou linfática e da fragilidade ou permeabilidade capilar, e também na prevenção dos danos causados pelas radiações UV (SAEWAN et al., 2013).

Choquenot e colaboradores (2009), avaliaram o potencial fotoprotetor de quercetina e rutina, incorporadas em emulsões, em uma concentração 10% (m/m). Os resultados mostraram que ambos os compostos apresentaram valores de FPS semelhantes aos do filtro comercial homossalato, utilizado como filtro padrão. Além disso, também apresentaram potencial de proteção na faixa UVA. Quando associado ao filtro inorgânico dióxido de titânio, os compostos apresentaram valor de FPS de

aproximadamente 30. Os autores concluíram que os flavonóides apresentaram efeitos sinérgicos quando associados aos filtros físicos, aumentando os níveis de FPS.

Em estudos semelhantes, Velasco e colaboradores (2008), demonstraram o potencial fotoprotetor *in vitro* de formulações contendo rutina associada ou não a filtros orgânicos UVB/UVA (benzofenona-3) e UVB (*p*-metoxicinamato de octila). A eficácia fotoprotetora da rutina foi dependente da concentração e a presença de filtros químicos UVA e UVB, com evidência de sinergismo na elevação do FPS, de 7,34 para 9,97, quando o flavonóide a 0,1% (m/m) foi associado com filtros *p*-metoxicinamato de octila e 3,5% (p/p) e benzofenona-3 a 1,0% (m/m). A rutina não associada aos filtros exerceu proteção à radiação UVA superior à formulação base e às suas associações

**Figura 9 - Estruturas moleculares da quercetina (a) e rutina (b).**



Fonte: CEFALI et al., 2016.

As propriedades fotoprotetoras também vêm sendo avaliadas em uma grande variedade de extratos vegetais, devido à composição química das plantas, que na maioria das vezes, apresenta constituintes como os compostos fenólicos, em particular os flavonóides, que devido às propriedades já mencionadas, como a sua semelhança estrutural com os filtros químicos, apresentam ação fotoprotetora e/ou potencializadora, sendo capazes de absorver a radiação UV e assim vêm sendo empregados em formulações fotoprotetoras associadas aos filtros UV (CEFALI et al., 2016).

Os compostos fenólicos apresentam potencial antioxidante complementando a ação fotoprotetora, visto que, eles possuem a capacidade de eliminar radicais livres,

estabilizar formulações com filtros químicos associados e neutralizar a ação dos radicais na pele, intensificando o efeito protetor (SCALIA et al., 2010; FILHO et al., 2016; PRÁ et al., 2016). A Tabela 5 apresenta alguns estudos com extratos vegetais, frações e formulações com potencial fotoprotetor.

**Tabela 5 - Potencial fotoprotetor de extratos vegetais, frações e formulações protetoras.**

Extratos / frações e formulações	Compostos ativos	FPS <i>in vitro</i>	Referências
Extrato etanólico de <i>Shinopsis brasiliensis</i> Engl., em concentrações (5, 25, 50 e 100 mg L <sup>-1</sup> )	Catequina, epicatequina, apigenina e ácido gálico	0,21 ± 0,01	(LIMA-SARAIVA et al., 2017)
		1,35 ± 0,05	
		2,98 ± 0,27	
Extrato metanólico de <i>Ipomoea pes-caprae</i>	Flavonoides, taninos e diterpenos	6,27 ± 0,69	(RATNASOORIA et al., 2017)
		15,39 ± 0,89	
Cosméticos fotoprotetores Bases líquidas (F) e mousse corretivo (M) com 0,1 e 0,3% de extrato de acetato de etila de semente de maracujá. (F e M, base sem ingrediente ativo)	-	F(base) = 5,88 ± 0,30	(LOURITH et al., 2017)
		F 0,1% (base + extrato) = 9,32 ± 0,88	
		F0,3% (base + extrato) = 9,77 ± 1,37	
		M (mousse) = 15,48 ± 1,60	
		M0,1% (mousse + extrato) = 18,75 ± 0,28	
		M0,3% (mousse + extrato) = 18,99 ± 0,71	
Extratos diclorometano, etanólico e metanólico de flores de <i>Bromelia laciniosa</i>	Antraquinonas, cumarinas, flavonoides e ligninas	1,69 ± 0,02	(OLIVEIRA-JUNIOR et al, 2017b)
		3,38 ± 0,04	
		3,78 ± 0,11	
Extratos hidrometanólicos de <i>Aloe vera</i> , <i>Hibiscus furcatus</i> e <i>Ipomoea mauturiana</i>	-	28,86 ± 0,11	(NAPAGODA et al., 2016)
		29,04 ± 0,40	
		11,03 ± 0,70	
Extrato hidrometanólico e frações (acetato de etila, n-butanol e água) de <i>Pontetilla atrosanguinea</i>	-	3,49 ± 0,46	(GUPTA et al., 2016)
		7,13 ± 0,35	
		3,74 ± 0,22	
		2,72 ± 0,47	

Extratos / frações e formulações	Compostos ativos	FPS <i>in vitro</i>	Referências
Extrato etanólico de <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Catequina, epicatequina, apigenina e ácido gálico	6.27 ± 0.69	(LIMA-SARAIVA et al., 2017)
Extrato etanólico de <i>Curcuma longa</i> , <i>Camellia sinensis</i> e <i>Punica granatum</i>	-	13,15 ± 0,03 17,14 ± 0,05 14,99 ± 0,13	(DESHMUKH et al., 2016)
Extratos etanólicos das folhas das espécies <i>Campomanesia guazumifolia</i> , <i>Campomanesia sessiliflora</i> , <i>Campomanesia xanthocarpa</i> , <i>Campomanesia adamantium</i>	-	3,00 ± 0,02 5,58 ± 0,03 2,60 ± 0,01 4,74 ± 0,04	(CATELAN et al., 2019)
Formulações preparadas com extratos hidroetanólico, metanólico e aquoso de folhas de <i>Moringa oleifera</i> a 4%	Rutina, quercetina, ácidos elágico clorogênico e ferúlico	1,71 ± 0,06 1,90 ± 0,06 2,01 ± 0,02	(BALDISSEROTO et al., 2018)
Formulações preparadas com extratos etanólicos de <i>Lippia brasiliensis</i> , <i>Lippia pseudothea</i> , <i>Lippia rotundifolia</i> e <i>Lippia rubella</i> , incorporados a 15%.	-	9,0 ± 1,0 6,0 ± 1,4 4,0 ± 0,9 9,0 ± 0,7	(GONÇALVES et al., 2015)

(-) = não determinado

Fonte: AUTORA, 2019.

### 3.5 Antioxidantes na fotoproteção

A pele é o maior órgão do corpo humano, têm a função de proteger os organismos contra o ambiente externo, sendo o principal alvo dos radicais livres. A exposição crônica aos raios solares UV é prejudicial à pele e é um dos fatores externos que pode influenciar no desequilíbrio entre a produção de EROs e sistemas antioxidante, causando o estresse oxidativo, provocando danos celulares e alterações cutâneas relacionadas ao processo de envelhecimento precoce e câncer de pele (HIRATA et al., 2004; MONTAGNER et al., 2009; MESA-ARANGO et al., 2017).

Compostos antioxidantes desempenham funções importantes na saúde, e têm sido amplamente utilizadas, tanto no tratamento de patologias, como na prevenção do envelhecimento cutâneo, queimaduras e ferimentos, causados pela exposição excessiva e crônica à radiação UV (KAMMEYER et al., 2015).

Antioxidantes podem ser definidos como quaisquer substâncias que, quando presentes em baixa concentração comparada as de um substrato oxidável, retardam ou previnem significativamente a oxidação deste substrato (HALLIWELL & GUTTERIDGE et al., 2007). Esses compostos fazem parte do sistema de defesa natural do organismo e atuam por meio de diferentes mecanismos de ação, tais como, sequestrador de radicais livres, doadores de hidrogênio e de elétrons, inibidores de enzimas responsáveis pela geração de EROs e ERNs e quelantes de metais (PRIOR et al., 2005; KUMAR et al., 2011). Os antioxidantes podem ser classificados em enzimáticos e não enzimáticos. O sistema enzimático é o primeiro a agir, evitando o acúmulo de radicais, é representado por diversas enzimas, destacando-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e glutathione reductase (GRx). O sistema antioxidante não enzimático pode ser dividido em endógeno ou exógeno. Os antioxidantes endógenos são produzidos pelo metabolismo no corpo, como, ácido lipóico, glutathione, *L*-arginina e coenzima-Q10, ácido úrico, e, os exógenos são obtidos através da dieta alimentar, como, vitaminas (E, C e A), vitaminas do complexo B, minerais (Zn e Se) e compostos fenólicos (HALLIWELL et al., 2012, LI et al., 2016).

O sistema de defesa antioxidante apresenta a capacidade de impedir e/ou diminuir os danos causados à pele, provocados pelas EROs, por meio do mecanismo fisiológico de defesa do próprio organismo, utilizando os antioxidantes endógenos. No entanto, quando esse sistema se torna insuficiente no processo de neutralização das

EROs, a utilização de antioxidantes exógenos por meio da dieta poderá restabelecer o equilíbrio do sistema (WANG et al., 2010).

Atualmente, os antioxidantes têm sido incorporados em produtos cosméticos como nas formulações fotoprotetoras, com o objetivo de reduzir os efeitos dos danos oxidativos induzidos pelos raios UV, de proporcionar a estabilização dos filtros solares que podem ser ativados pelas radiações ultravioleta e gerar processos de degradação, levando a uma redução na capacidade fotoprotetora, formação de radicais livres e outros intermediários reativos que podem agir de maneira direta ou indireta causando reações adversas, como dermatites ou de fotossensibilidade, e proporcionar um aumento nos valores de FPS, permitindo uma proteção de amplo espectro à pele (CHIARI et al., 2014; VILELA et al., 2016). Dentre as substâncias ativas utilizadas nas formulações que apresentam propriedades fotoprotetoras, destacam-se a vitamina E, o ácido ascórbico (vitamina C), os carotenoides, a coenzima Q, o resveratrol, a curcumina, os flavonóides e outros compostos fenólicos (CHEN et al., 2012; DZIATO et al., 2016).

Alguns estudos têm demonstrado a eficácia de antioxidantes, isolados ou associados aos filtros solares, como substâncias ativas na fotoproteção. Em estudos realizados por Lin e colaboradores (2003), a combinação entre soluções aquosas de 15% (m/m) de ácido *L*-ascórbico (vitamina C) e 1% de  $\alpha$ -tocoferol (m/m), aplicada em pele de porco e radiada, usando uma fonte simulada de radiação UV com filtro de passagem da banda de 295 nm, apresentou proteção significativa contra a formação de eritemas 4 vezes maior que as vitaminas isoladas. Além disso, a combinação das vitaminas, exerceu proteção contra a formação de dímeros de timina, gerados pela alteração da molécula de DNA. Os autores concluíram que os antioxidantes agiram de forma sinérgica contra o estresse oxidativo, e sugeriram que a combinação entre elas fornece suplementos úteis à proteção solar contra os danos causados pelos raios UV.

A Tabela 6 apresenta benefícios do uso de alguns antioxidantes naturais, isolados ou associados aos filtros solares em formulações protetoras.

**Tabela 6 - Benefícios de alguns antioxidantes naturais isolados ou associados a filtro solares em formulações protetoras.**

Substâncias	Objetivos	Resultados	Referências
Vitaminas C e E, ubiquinona	Avaliar a estabilidade do filtro químico avobenzona em solução de DMSO, na presença de antioxidantes naturais, preparadas em várias concentrações, e em formulações protetoras	A presença dos antioxidantes vitaminas C (1:0,5) e E (1:2), ubiquinona (1:1) promoveu um aumento na estabilização da avobenzona em solução, nas formulações, a ubiquinona foi o fotoestabilizador mais eficaz, promovendo um aumento de FPS da avobenzona de 3,43 para 6,86.	(AFONSO et al., 2014)
Resveratrol	Avaliar a atividade fotoprotetora de seis análogos (A-F) derivados do resveratrol, e incorporados a uma concentração de 15% em loção cosmética neutra	O resveratrol apresentou valor de FPS 7, FPUVA 2 e $\lambda_c = 362$ nm. Os análogos apresentaram um perfil variado de fotoproteção, com valores de FPS de 2 a 10, FPUVA de 0 a 9 e $\lambda_c$ entre 362 e 369 nm. Dentre os seis análogos testados, a proteção do composto B foi mais significativa do que a proteção fornecida pelo resveratrol.	(POLONINI et al., 2013)
Ácido ferúlico + filtro químico octil triazona + bemotrizinol	Avaliação da eficácia fotoprotetora <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de formulações contendo filtros químicos e ácido ferúlico	A formulação do ácido ferúlico isolado a 1% (m/m), apresentou FPS de 1,0. Entretanto, quando associado aos filtros octil triazona a 5% (m/m) e bemotrizinol a 10% (m/m), promoveu um aumento no valor de FPS de 34, obtido pelos filtros solares, para 53. Nos testes <i>in vivo</i> , a formulação do ácido ferúlico associado aos filtros solares promoveu um aumento de FPS de 32% e 24% de UVA-PF, em relação à formulação contendo apenas os filtros solares.	(PEREZ et al., 2015)

### 3.6 Atividade antiglicante

A pele demonstra de forma notável o processo de envelhecimento cutâneo ocasionado pela ação de fatores intrínsecos e/ ou extrínsecos, Os fatores extrínsecos são resultantes dos estímulos ambientais, tais como a exposição à radiação solar excessiva (LANDAU et al., 2007; KRUTMANN et al., 2017). Já, o envelhecimento intrínseco ocorre de forma natural, sendo cumulativo com o passar do tempo e comum a todos os seres humanos, é caracterizado por alterações biomoleculares, como por exemplo, o dano causado pelo processo de glicação de proteínas como o colágeno e elastina, que conferem resistência à pele (PINTO, 2014; YONEI et al., 2015).

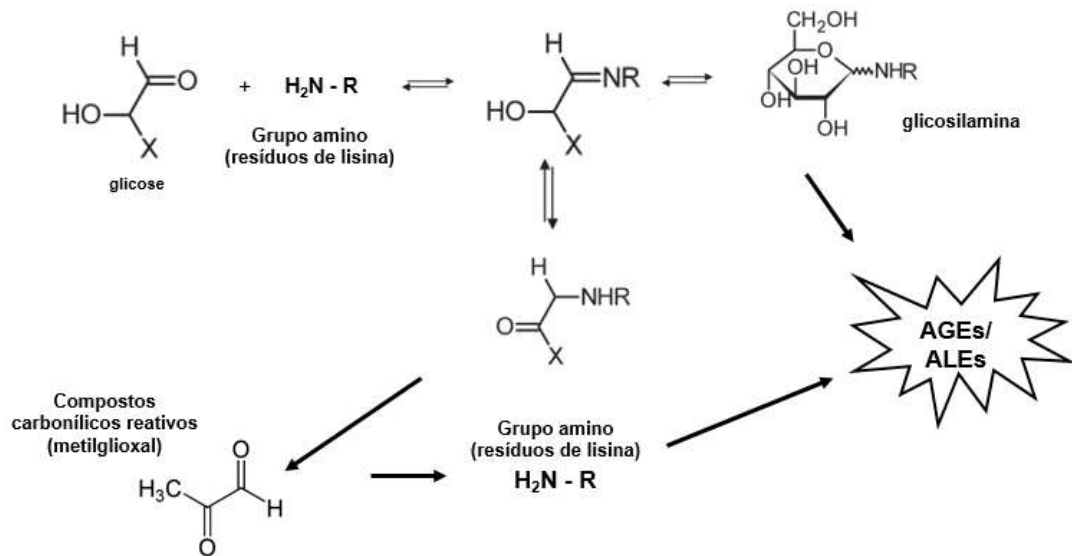
A reação de glicação foi descrita pela primeira vez pelo químico francês Louis Camille Maillard em 1912. A glicação consiste em uma reação não-enzimática que ocorre entre a carbonila de açúcares redutores como glicose e frutose, com grupamentos amino de aminoácidos, peptídeos e proteínas, em etapa inicial, resultando na formação das bases de Schiff que sofrem rearranjos e conduzem aos produtos estáveis de Amadori (Figura 10). No segundo estágio, conhecido como estágio avançado da glicação, a reação se baseia na conversão dos produtos de Amadori em compostos carbonílicos altamente reativos, capazes de reagir com outros grupos amino de aminoácidos para a formação dos produtos finais de glicação avançada (AGEs) ou lipoxidação (ALEs) (VISTOLE et al., 2013; BARBOSA et al., 2016).

No entanto, existem outras vias para a produção de AGEs, conhecida como a via do “estresse carbonílico”, onde a ocorrência da oxidação de lipídios ou de açúcares, gerando compostos dicarbonílicos de alta reatividade. O processo de oxidação da glicose produz compostos carbonílicos como o metilglioxal (MG) e glioxal (GO), considerados mais reativos que o açúcar original, eles reagem mais rapidamente com resíduos de proteínas, por meio de reações de condensação. São considerados como propagadores de reação que levam à formação dos produtos finais de glicação avançada (AGEs) (CHINCHANSURE et al., 2013; BARBOSA et al., 2016).

Os AGEs são um grupo de moléculas heterogêneas, como os adutos proteicos ligados covalentemente (fluorescentes e não fluorescentes) ou produtos de ligação cruzadas entre resíduos de aminoácidos (MARQUES et al., 2017).



**Figura 10 - Esquema simplificado das principais etapas da reação de Maillard.**

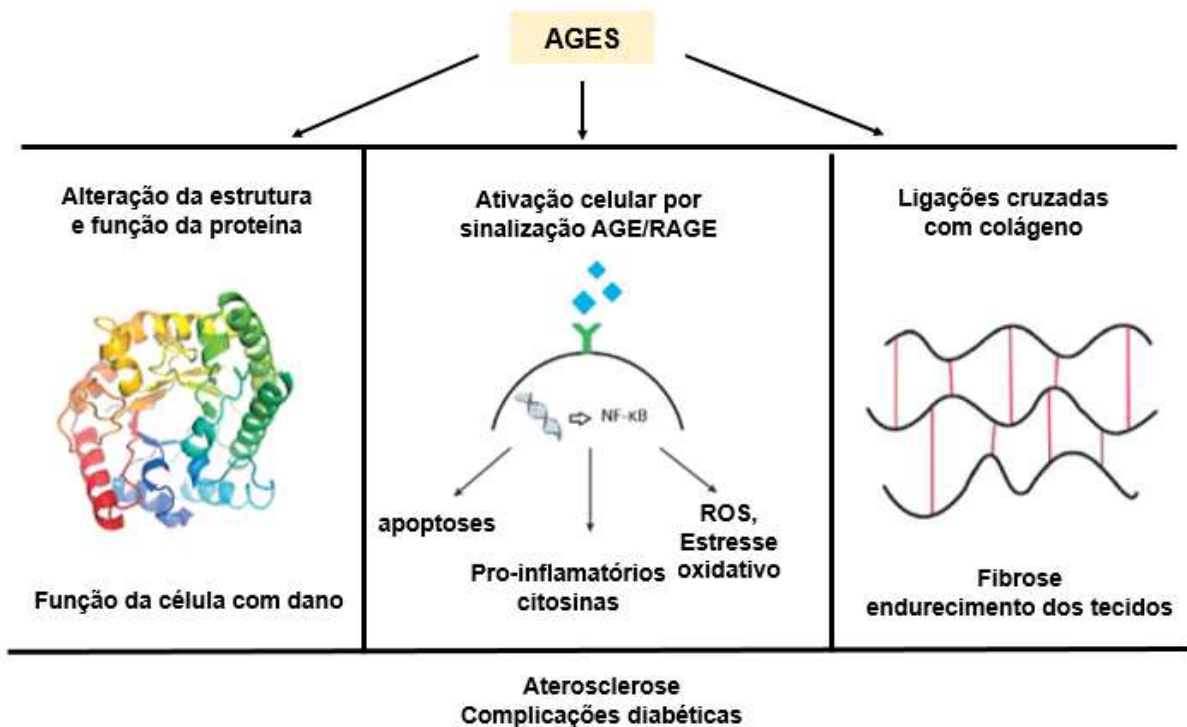


Fonte: Adaptado de VISTOLE et al., 2013; BABOSA et al., (2016).

Sob condições fisiológicas, a produção endógena de AGEs, em tecido cutâneo e fluidos corporais ocorre dentro de algumas semanas ou anos. A formação e o acúmulo desses compostos no sistema biológico estão correlacionados com o processo de envelhecimento e com uma série de doenças crônicas degenerativas, inflamação e *diabetes mellitus*. Contribui, por diferentes mecanismos, no desenvolvimento dessas complicações, modificando propriedades funcionais de várias moléculas importantes na matriz (Figura 11). O colágeno, principal proteína fibrosa presente na matriz extracelular responsável por conferir força e apoio à pele, é um dos principais alvos dos AGEs no tecido cutâneo, onde, através de ligações cruzadas intermoleculares, resulta em modificações estruturais e funcionais permanentes, levando ao endurecimento do tecido e a perda da elasticidade da pele (BARBOSA et al., 2008; ROORDA et al., 2017).

Os AGEs também podem ser formados no organismo a partir de fontes exógenas como dieta e o fumo. No entanto, estudos quanto ao mecanismo de absorção e biodisponibilidade desses compostos são necessários (BARBOSA et al., 2016).

**Figura 11 - Efeitos dos AGEs**



Fonte: Adaptado de ROORDA et al., 2017.

Diante do exposto em relação às complicações causadas pelos AGEs, diversos autores têm investigado uma variedade de compostos químicos naturais e sintéticos que atuam como inibidores da reação de glicação de proteínas, no combate à formação desses compostos. Compostos como guanidinas (aminoguanidinas), catequinas (epigallocatequinas), resveratrol e curcuminas estão entre as classes de substâncias já estudadas que apresentam capacidade de combater a formação de AGEs por atuarem como varredores de espécies  $\alpha$ -dicarbonílico (PENG et al, 2011; WANG et al., 2012; HU et al., 2012; MARQUES et al., 2017). Nesse contexto, a busca por novas fontes de compostos naturais que possam atuar como agentes antiglicantes, tem se tornado crescente, visto que, alguns autores, relatam que produtos naturais como os vegetais, as frutas, chás e plantas medicinais, apresentam compostos fenólicos em sua composição que podem exercer tal função (YEH et al., 2016; Xavier et al., 2017).

### 3.7 *Cocos nucifera* Linnus

A espécie *Cocos nucifera* L. pertence à família Palmae Arecaceae (família das palmeiras), conhecida como coqueiro, é uma planta originária do sudeste asiático e muito cultivada nos países tropicais (Figura 12(A)). No Brasil, as plantações e produções se concentram na faixa litorânea do Nordeste. São encontradas as duas principais variedades, *typica* A (gigante) e nanã (anão) que é composta pelos cultivares anão amarelo, verde, vermelho de camarões e da Malásia (HOODA, 2012; LIMA et al., 2015).

O coqueiro é composto de várias partes, como raiz, estirpe, folhas, inflorescência e frutos, que desempenham vários papéis importantes em diversas áreas, pela multiplicidade de sua utilidade (DEBMANDAL et al., 2011). Dentre as diversas utilidades, destacam-se o uso da raiz na confecção de produtos artesanais e na aplicação medicinal no tratamento de diarreia, feridas e gargarejos bucais (SIVAKUMAR et al., 2011). As folhas são usadas na fabricação de tapetes, chapéus e na aplicação terapêutica (FIGUEIRA, 2012); a inflorescência pode ser usada no tratamento de distúrbios do ciclo menstrual, de diarreia e de diabetes (BHANDARY et al., 1995; RENJITH et al. 2013).

O fruto, conhecido como coco, é a parte de maior importância do coqueiro, principalmente pelos seus valores nutricionais e medicinais, é uma drupa ovoide, constituída pelo epicarpo ou epiderme (parte lisa que envolve o mesocarpo), mesocarpo (parte espessa ou fibrosa) e endocarpo (reveste o albúmen sólido (carne do coco) e albúmen líquido (água de coco), todas as suas partes são utilizadas, diferentes produtos são obtidos a partir do coco e aplicados nas áreas alimentícias, industriais e medicinais (EMBRAPA, 2011; ROOPAN, 2016).

As fibras da casca do coco são um subproduto obtido do processamento da cultura do coco (Figura 12(B)), constituídas de componentes químicos como celulose, hemicelulose e ligninas, compostos fenólicos (ESQUENAZI et al., 2002; SILVA et al., 2013; THOMAS et al., 2017). Assim como as outras partes do coco, as fibras podem ser aplicadas em diversas áreas. Segundo Lima e colaboradores, (2015), nos países asiáticos, considerados os maiores produtores de coco do mundo, como a Tailândia, Sri Lanka e Índia, as fibras são empregadas na agricultura, na indústria e na medicina tradicional, para o tratamento de várias condições patológicas (na amenorreia, asma, doenças venéreas, tratamento da diabetes e inflamações e como antipirético).

De acordo com Esquenazi e colaboradores (2002), no Brasil, a decocção das fibras de coco são utilizadas na medicina popular do Nordeste nos tratamentos de afecções como a diarreia e artrite.

**Figura 12 - Coqueiro e fibras das cascas de coco**



Fonte: EMBRAPA, 2011; MATTOS et al., 2011.

### **3.7.1 Composição química e atividades biológicas de *Cocos nucifera* L.**

A ampla utilização e o potencial terapêutico das fibras da casca do coco, empregadas na medicina popular de vários países, tem despertado o interesse de pesquisadores em investigar as propriedades farmacológicas, biológicas, e realizar a identificação dos princípios ativos responsáveis pelas atividades biológicas exercidas pelas fibras. Em recentes estudos realizados para a caracterização fitoquímica das fibras das cascas do coco, foi demonstrado que extratos preparados por diferentes solventes, apresentam em sua composição compostos como fenóis, flavonoides, taninos, triterpenos, alcaloides (Tabela 7). Estes constituintes exercem importantes atividades biológicas, tais como, antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória, analgésica, antitumoral, antimalárica, antioxidante, fotoprotetora e antiglicante (SILVA et al., 2014; MONTEIRO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2009; HU et al., 2017; YEH et al., 2017).

**Tabela 7** - Extratos das fibras da casca do coco, atividades biológicas e principais fitoquímicos

<b>Extratos de <i>Cocos nucifera</i> L.</b>	<b>Atividades Biológicas</b>	<b>Composição Fitoquímica</b>	<b>Referências</b>
Extrato aquoso (variedade ( <i>typica</i> A))	Antimicrobiana e antiviral	Catequina, epicatequina e taninos condensados	(ESQUENAZI et al., 2002)
Extrato metanólico	Antioxidante e antimicrobiana	5-O-cafeoilquínico (ácido clorogênico), dicafeoilquínico e três isômeros de ácido cafeoil-chiquímico	(CHAKRABORTY et al., 2008)
Extrato butanólico (variedade anão verde)	Anti-helmíntica	Triterpenos, saponinas e taninos condensados	(COSTA et al., 2010)
Extrato acetato de etila	Leishmanicida	Catequina e epicatequina	(MENDONÇA- FILHO et al., 2004; FREITAS et al., 2011)
Extrato acetato de etila (variedades (anão amarelo, anão verde e híbrido)	Antimalárica	Alcaloides, taninos e flavonoides	(ADEBAYO et al., 2013)
Extrato etanólico (variedade amarelo)	Antioxidante	Quercetina e catequina	(OLIVEIRA et al., 2013)
Extrato aquoso (fração acetato de etila)	Antimicrobiana	Ácidos gálico e elágico, catequina, epicatequina, dímeros de procianidina e taninos condensados	(SILVA et al., 2013a)
Extrato aquoso (variedade gigante)	Anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiana.	Procianidinas poliméricas	(SILVA et al., 2013b)

<b>Extratos de <i>Cocos nucifera</i> L.</b>	<b>Atividades Biológicas</b>	<b>Compostos Fitoquímicos</b>	<b>Referências</b>
Extrato hidroalcolólico (variedade ( <i>typica A</i> ))	Antidepressiva, antioxidante e neurotrófica	Catequina e ácido clorogênico	(LIMA et al., 2016)
Extrato hidrometanólico	Antioxidante	Ácidos gálico, 4-Hidroxibenzoico, ferúlico, siringico e vanílico, catequina, epicatequina, kampferol, rutina e vanilina,	(VALADEZ-CARMONA et al., 2016)

Fonte: AUTORA, 2019.

Apesar do crescente número de estudos realizados com as fibras da casca do coco, no sentido de uma possível aplicação farmacológica devido ao seu potencial biológico, estudos com estas fibras em relação a algumas atividades biológicas como, fotoprotetora e antiglicante, são inexistentes. Em trabalhos anteriores realizados pelo nosso grupo de pesquisa, foi demonstrado que o extrato etanólico das fibras das cascas do coco da variedade anão amarelo apresentou um elevado poder antioxidante, e, em estudos preliminares sobre a caracterização fitoquímica do extrato, foi detectada a presença dos compostos fenólicos quercetina e catequina (OLIVEIRA et al., 2013). De acordo com a literatura esses compostos são capazes de reduzir a excessiva absorção de raios UV, envolvidos nos processos de fotoenvelhecimento e câncer de pele (SAWEAN et al., 2013). Nesse sentido, esses dados nos motivaram a investigar o potencial fotoprotetor do extrato, visto que, o uso de produtos naturais tem sido amplamente relatado no estudo de fotoproteção. Até o presente momento, não foram relatados na literatura, estudos em relação ao seu perfil fotoprotetor.

### **3.8 *Schinus terebinthifolius* Raddi**

A espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi, é uma planta pertencente à família *Anacardiaceae*, conhecida popularmente como pimenta rosa, aroeira vermelha ou pimenta brasileira. A variação dos nomes se deve ao fato de seus frutos possuírem aparência de pimenta rosa avermelhada. É uma planta nativa da América do Sul e se

encontra distribuída na costa brasileira, desde a região Nordeste até a região Sul, em várias formações vegetais, sendo mais comum, em beiras de rios (CERUKS et al., 2007; CARVALHO et al., 2013).

*Schinus terebinthifolius* é uma árvore de porte médio, atinge uma altura de 5 a 10 m. Suas folhas são verde-escuras, compostas, oblongas a elípticas e com nervura proeminentes na parte de cima do limbo (Figura 13 (A)). As flores são pequenas, branco-amareladas, possuem sexos separados na mesma inflorescência e são agrupadas em cacho. Os frutos (Figura 13 (B)), são do tipo drupa, com 4 a 5 mm de diâmetro, que quando imaturos, são verde-claros e quando maduros se tornam vermelhos, com sabor adocicado e aromático. A semente é única, cor marrom escura, com cerca de 0,3 mm de diâmetro (DEGASPARI et al., 2004; EMBRAPA, 2016). Os frutos destacam-se entre as diversas especiarias existentes e geralmente são usados como condimentos alimentares, essencialmente para acrescentar sabor e refinamento aos pratos da culinária mundial. Além disso, apresenta grande importância comercial, devido às suas propriedades medicinais e fitoquímicas (PAGANI et al., 2014; AZEVEDO et al., 2015).

**Figura 13 - Cachos com frutos maduros da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi**



A)



B)

Fonte: DEGASPARI et al., 2004.

### 3.8.1 Composição química e atividades biológicas de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

A pimenta rosa apresenta um grande potencial terapêutico e diversas partes desta árvore tropical (folhas, cascas, sementes, óleo) têm sido utilizadas na medicina popular de vários países. Segundo Bertodi e colaboradores (2006), as folhas podem ser utilizadas no tratamento de bronquite, de feridas e úlceras. De acordo com Guerra e colaboradores (2000), os frutos apresentam ação adstringente e são utilizados no tratamento de inflamações uterinas. O óleo é usado em tumores e doenças da córnea (COLE et al., 2014).

Estudos fitoquímicos realizados com a espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi, evidenciaram a presença de metabólitos secundários como fenóis, flavonóides, triterpenos, antraquinonas, esteroides e taninos (Tabela 8). O interesse científico-tecnológico por esta espécie se deve ao seu potencial terapêutico. A presença desses constituintes, em diversas partes da planta (folhas, caule, frutos, sementes), exerce importantes atividades biológicas, tais como antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, citotóxica, antiproliferativa e fotoprotetora (CERUKS et al., 2007; COSTA et al., 2011; GILBERT et al., 2011; SANTANA et al., 2012; MACHADO et al., 2014; PAGANI et al., 2014; BULLA et al., 2015; GLÓRIA et al., 2017; SILVA et al., 2017).

Diversos estudos realizados com diferentes partes da planta da pimenta rosa, têm sido relatados, entretanto, estudos com os frutos dessa espécie, ainda se encontram pouco difundidos, em particular, das cascas desses frutos (DEGASPARI et al., 2005; SANTOS et al., 2017).

Visto que os frutos da pimenta rosa apresentam um grande potencial como fonte natural de compostos biologicamente ativos, como parte dos nossos estudos visando o reconhecimento desses compostos com ação antioxidante, fotoprotetora, antiglicante, dentre outras, a sua investigação se torna relevante.



**Tabela 8 - Extratos dos frutos de pimenta rosa, atividades biológicas e principais compostos fitoquímicos.**

<b>Extratos de <i>Schinus terebinthifolius</i></b>	<b>Atividades Biológicas</b>	<b>Compostos fitoquímicos</b>	<b>Referências</b>
Extratos etanólico e aquoso dos frutos	Antioxidante	Apigenina, ácido elágico, naringina	(DEGASPARI et al., (2004),
Fração de acetato de etila dos frutos	Antioxidante e antimicrobiana	Ácido gálico e naringenina apigenina	(GLÓRIA et al., 2017) (BERNARDES et al., 2014)
Extrato metanólico dos frutos	Antioxidante	Ácidos gálico, vanílico e cumárico, epicatequina, rutina, luteolina e Kampferol	(TLILI et al., 2018)

Fonte: AUTORA, 2019

## 2.9 Justificativa

Diante do exposto, as fibras da casca de coco, cascas e frutos de pimenta rosa, também podem ser aproveitadas por apresentar um grande potencial biológico, visto que, alguns estudos com extratos dessas amostras relataram a presença de compostos fenólicos, em sua composição. Esses dados despertaram o interesse no grupo em avaliar o potencial fotoprotetor, capacidade antiglicante, caracterização química dos extratos etanólicos das fibras das cascas de coco da variedade anão amarelo e das cascas e frutos de pimenta rosa. A utilização desses extratos surge como uma fonte alternativa de ingredientes ativos em formulações cosméticas/farmacêuticas.

## 4 EXPERIMENTAL

### 4.1 Reagentes, solventes e equipamentos

No presente trabalho foram utilizados os seguintes reagentes e solventes: reagente de Folin-Ciocalteu, radical 2,2- difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•), 2,4,6-tris (2-piridil)-5-tiazina (TPTZ), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico (Trolox), acetato de sódio, quercetina (Sigma Aldrich), ácido gálico e cloreto férrico (Vetec Química Fina Ltda (Brasil)), ácido acético glacial (Labsynth – Ltda. (São Paulo, Brasil), ácido clorídrico (Cromoline Química Fina – Ltda (São Paulo, Brasil), Eusolex 4360 (Benzofenona – 3) (Pharma Nostra – Brasil), carbonato de sódio anidro (Reagen Químibras Indústrias Químicas S/A - RJ), acetato de sódio (CRQ Cromato Produtos Químicos Ltda), metanol, etanol, hexano (Panreac Química S. A. U (Espanha). Todos os reagentes foram de grau analítico. Todas as soluções tampão foram preparados com água purificada (18 MΩ cm), a partir de um sistema de purificação Milli – Q da Millipore Inc. As vidrarias utilizadas foram de uso exclusivo, sendo lavadas com água deionizada e etanol a 70% (v/v), antes e após a sua utilização.

A Tabela 9 lista os equipamentos utilizados nas análises.

**Tabela 9 - Equipamentos utilizados no presente trabalho.**

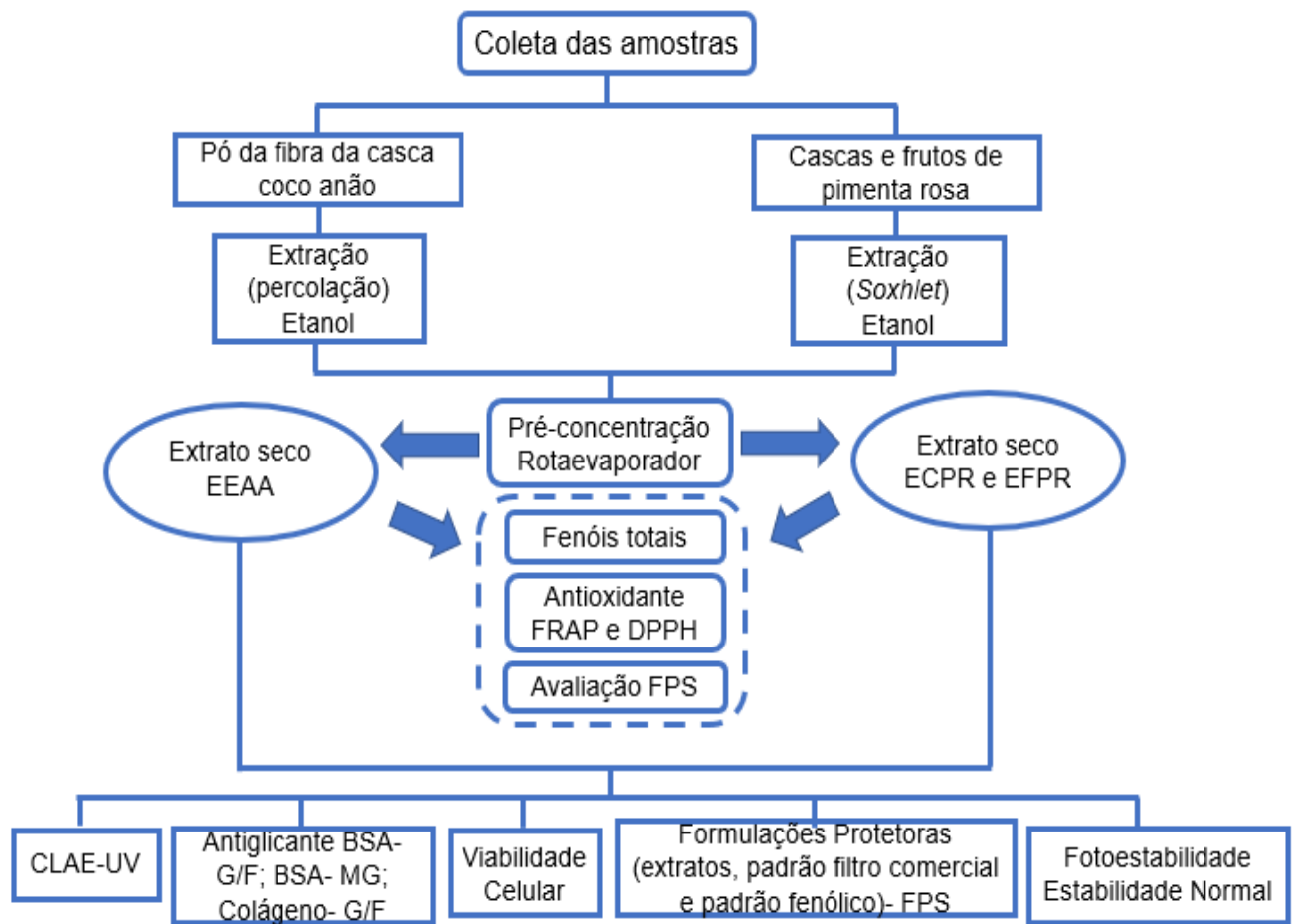
<b>Equipamentos</b>	<b>Marca/Modelo</b>
Agitador de soluções (vortéx)	Phoenex AP-56
Aquecedor	BiomiXer 78 HW-1
Banho de água termostatizada	Buchi, heating bath B-491
Bomba de vácuo	Emerson – Motor Division ST Louis, MO. USA – CASSKXDJW – 2137 CAT
Balança analítica (0,01mg / 0,1mg)	Mettler Toledo AG 245
Espectrofotômetro UV-vis	Mutispec - 1501 Shimadzu, Japão.
Espectrofluorímetro	Shimadzu, Japão RF 5301 PC
Estufa	TECNAL – TE – 394/1
HPLC	Shimadzu modelo 20 <sup>a</sup>
Incubadora refrigerada MA 830	Marconi
pHmetro	Putek
Rotaevaporador	BUCHI R-210
Ultrassom	Cristófoli

Fonte: AUTORA, 2019.

## 4.2 MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no laboratório de Eletroquímica e Estresse Oxidativo (LEEO), no Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), exceto o ensaio de viabilidade celular, que foi realizado em colaboração com o Laboratório de Biologia Celular, na UFAL, sob a responsabilidade do Prof. Emiliano Barreto e Alexandre Borboly, e as análises no Infravermelho que foram realizadas no Instituto Federal de Alagoas (IFAL), campus Maceió, sob a orientação da Profa. Iara Barros Valentim. A Figura 14 mostra o fluxograma dos experimentos utilizados no presente trabalho.

**Figura 14 - Rota experimental simplificada utilizada no presente trabalho**



EEAA – Extrato etanólico coco anão amarelo; ECPR e EFPR – Extratos etanólicos casca e frutos de pimenta rosa; FRAP – Potencial redutor de ferro; DPPH – 2,2'-difetil-picril-hidrazila; FPS – Fator de proteção solar; CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência; UV – ultravioleta; BSA – Albumina sérum bovina; G – Glicose; F – Frutose.

#### 4.2.1 Obtenção das amostras

As fibras das cascas de *Cocos nucifera* L. da variedade anão amarelo (em fase maduro) fornecidas pelo Professor Doutor Antônio Euzébio G. Santana foram coletadas em Maceió – AL. As amostras da pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi) (frutos e cascas) foram fornecidas pelo Doutor José Roberto Fonseca do Instituto Eco engenho. As plantas foram identificadas pela botânica Rosângela P. L. Lemos e as amostras foram depositadas no herbário do Instituto do Meio Ambiente, Estado de Alagoas, Brasil.

#### 4.2.2 Obtenção dos extratos etanólicos das fibras das cascas de *Cocos nucifera* e da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*)

O processo de extração das fibras das cascas de coco da variedade anão amarelo foi realizado de acordo com Adebayo e colaboradores (2012), com algumas modificações. As fibras das cascas de coco da variedade anão amarelo (maduro), foram secas a temperatura de 40 °C, e transformadas em pó em triturador de faca forrageira do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. O extrato etanólico do pó (400 g) foi preparado por maceração com 6 L de etanol, ficando em contato por 3 dias (72 h). Este processo se repetiu por duas vezes. O filtrado foi recolhido e concentrado em rotaevaporador (Buchi Rotavapor R-114) a 35 °C, obtendo-se o extrato etanólico das fibras das cascas de coco da variedade anão amarelo codificado como (EEAA), armazenado em frascos de vidro âmbar e mantido sob sistema de refrigeração.

Os extratos etanólicos das amostras de pimenta-rosa (frutos e cascas) foram preparados de acordo com De Oliveira e colaboradores (2009), com algumas modificações. Foram pesados 10 g de cada amostra, acondicionadas em cartucho poroso de papel-filtro e colocadas na câmara do extrator de Soxhlet. Em seguida, foram medidos 150 mL de etanol e colocados em balão de fundo redondo, que foi acoplado ao extrator. O sistema foi mantido sob refluxo por um período de 6 h a 65 °C. Após atingir a temperatura ambiente, os extratos foram concentrados em rotaevaporador, obtendo-se os extratos etanólicos das cascas e frutos de pimenta

rosa (ECPR e EFPR) e armazenados em frasco de vidro âmbar sob refrigeração, para análises posteriores.

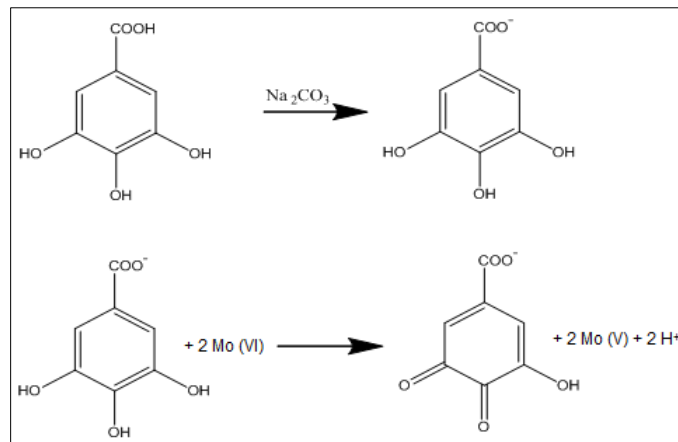
#### 4.2.3 Determinação do conteúdo total de fenóis

O reagente de Folin-Ciocalteu (RFC) consiste de uma mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotungstico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação (VI) (cor amarela), porém, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 (V) e 6 (VI) e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras. Em meio básico, o ácido gálico (composto fenólico) é desprotonado gerando o ânion carboxilato (Figura 15). Em uma reação de oxirredução entre o ânion e RFC, o metal sofre redução a Mo (V) e o meio reacional muda de coloração amarela para azul (SINGLETON, ORTHOFER & LAMUELA-RAVENTÓS, 1999; HUANG, OU & PRIOR, 2005).

O conteúdo total de fenóis foi determinado, utilizando-se o método de Folin-Ciocalteu (FC), como descrito por CICCIO e colaboradores (2009), com algumas modificações. As amostras EEAA, ECPR e EFPR foram diluídas em etanol ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Em tubos de ensaio foram colocadas alíquotas de  $120 \mu\text{L}$  dos extratos com  $180 \mu\text{L}$  de água Milli-Q. Em seguida foram adicionados,  $300 \mu\text{L}$  de RFC e, após 2 min,  $2,4 \text{ mL}$  de carbonato de sódio a 5% (m/v) totalizando um volume de 3 mL. Os tubos foram agitados em um vórtex e mantidos no escuro, em banho-maria a uma temperatura de  $40^\circ\text{C}$  por 20 min. Em seguida, uma alíquota de 3 mL da amostra foi colocada em cubeta de quartzo (caminho óptico = 1 cm) e medida a absorvência a 760 nm, usando um espectrofotômetro (UV - vis modelo Mutispec-1501 Shimadzu, Japão). O mesmo procedimento foi realizado utilizando  $120 \mu\text{L}$  de etanol como branco.

O conteúdo total de fenóis (CTF) foi obtido por meio de uma curva analítica preparada a partir da solução etanólica do padrão fenólico ácido gálico ( $1,12 - 10,53 \text{ mg L}^{-1}$ ), construída a partir do programa Origin 8.0, e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama do extrato ( $\text{mg de EAG g}^{-1}$  do extrato seco).

**Figura 15 - Reação do ácido gálico em presença do molibdato, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.**



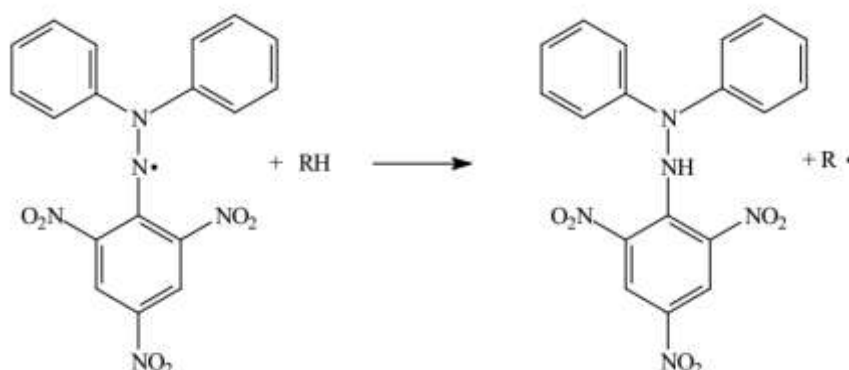
Fonte: Adaptado de SINGLETON, ORTHOFER E LAMUELA-RAVENTÓS (1999).

#### 4.2.4 Capacidade antioxidante frente ao radical DPPH•

O ensaio do DPPH• tem como objetivo avaliar o potencial de captura de radicais livres por uma molécula antioxidante. A molécula de DPPH• é caracterizada como um radical livre estável, em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula, quando em metanol apresenta coloração púrpura com absorção máxima de 516 nm. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar ( $\text{R}^{\bullet}$ ), o DPPH• é reduzido formando 2,2-difenil-picril-hidrazina (DPPH-H) de coloração amarela, com o conseqüente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorvência (OLIVEIRA et al., 2009).

A determinação da capacidade antioxidante dos EEAA, ECPR e EFPR foi feita de acordo com Saánchez-Moreno e colaboradores (1999), com algumas modificações. Soluções etanólicas dos extratos foram preparadas na concentração de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ . No preparo das misturas reacionais foram utilizados  $300 \mu\text{L}$  da solução da amostra e  $2,7 \text{ mL}$  da solução metanólica de DPPH• a  $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ . A avaliação da capacidade antioxidante foi determinada monitorando-se a redução do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) a DPPH-H (difenil-picril-hidrazina) (Figura 16), por meio da medida do decréscimo da absorvência a 516 nm, em espectrofotômetro (UV-vis modelo Multispec – 1501 Shimadzu, Japão).

**Figura 16 - Reação de redução de DPPH• por um antioxidante genérico RH.**



Fonte: Adaptado de FERREIRA, 2013

A percentagem da capacidade sequestradora de radicais (ASR) de cada extrato foi calculada através da Equação 4 no tempo reacional de 30 min.:

$$\% \text{ ASR} = \left[ \frac{\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \right] \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde:  $\text{Abs}_{\text{controle}}$  é a absorvência inicial da solução metanólica de DPPH• e  $\text{Abs}_{\text{amostra}}$  é a absorvência da mistura reacional (DPPH• + amostra). As reações foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como % ASR média  $\pm$  desvio padrão.

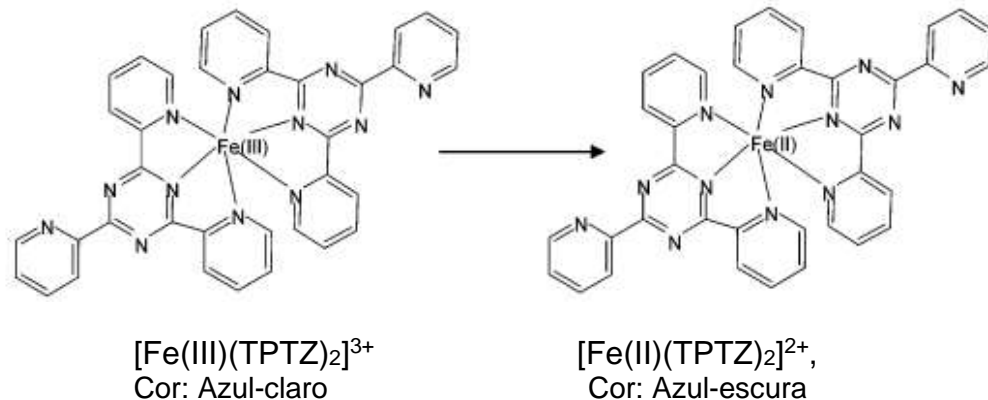
A concentração inibitória  $\text{IC}_{50}$  (definida como concentração da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH•), avaliada para os extratos, foi obtida graficamente através da curva de calibração na faixa ( $1,5 - 13 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), da concentração versus o percentual de inibição correspondente. A curva foi construída a partir do programa Origin 8.0 e os ensaios foram realizados em triplicata.

#### **4.2.5 Capacidade antioxidante pelo método de redução de ferro – FRAP.**

O método baseia-se na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem em meio ácido ( $\text{pH} = 3,6$ ) o complexo  $\text{Fe(III)/TPTZ}$  (2,4,6-tris(2-piridil)-s-tiazina)  $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$  para formar o complexo  $\text{F(II)[Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ , de coloração azul, em comprimento de onda máximo de 595 nm (Figura 17).

A determinação da capacidade antioxidante por redução do ferro dos EEAA, ECPR e EFPR foi realizada de acordo com o procedimento descrito por BENZIE e colaboradores (1996), com algumas modificações. Foram transferidos para um tubo de ensaio uma alíquota de 90  $\mu\text{L}$  de cada solução dos extratos etanólicos ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 270  $\mu\text{L}$  de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP, que foi preparado no momento da análise, através da mistura de 25 mL de tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 2,5 mL solução TPTZ (10 mM em HCl 40 mM) e 2,5 mL da solução de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (20 mM). Em seguida, os tubos com tampas foram agitados em um vórtex, AP- 56 e estes foram mantidos em banho-maria a 37 °C durante 30 min. As medidas de absorvência foram realizadas em espectrofotômetro (UV-vis modelo Multispec – 1501 Shimadzu, Japão) a 595 nm. O reagente FRAP foi utilizado como branco. Utilizou-se o padrão Trolox para a construção da curva de analítica ( $0,15 - 30 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalentes trolox (ET)/ g do extrato seco.

**Figura 17 - Reação de redução do complexo TPTZ [Fe(III)/Fe(II)].**



Fonte: HUANG et al., 2005

#### 4.2.6 Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* dos extratos etanólicos de *Cocos nucifera* e *Schinus terebinthifolius*

O fator de proteção solar dos extratos foi determinado de acordo com o método descrito por Mansur e colaboradores (1986) e Silva et al., (2015), com algumas modificações. Soluções estoque dos extratos etanólicos das fibras das cascas de coco, das cascas e frutos de pimenta rosa foram preparadas em etanol P.A. ( $0,1 \text{ g mL}^{-1}$ ). De cada solução estoque, foram obtidas diluições nas concentrações de 0,2; 2;



5; 10 e 15 mg mL<sup>-1</sup>. Após esse procedimento, a amostra foi colocada em cubeta de quartzo (caminho óptico = 1 cm) e as medidas de absorvência, na faixa de 290 – 320 nm com intervalos de leitura de 5 nm foram realizadas, utilizando um espectrofotômetro (UV-vis modelo Multispec – 1501 Shimadzu, Japão). O etanol foi utilizado como branco. As análises foram realizadas em triplicata. Os valores de FPS dos extratos foram calculados utilizando a Equação 3, apresentada no item 3.3.3.1.

#### **4.2.7 Identificação dos compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

As análises de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foram realizadas de acordo com Glória e colaboradores (2017) e Freitas (2017), com algumas modificações. Nesse trabalho, a técnica de CLAE foi utilizada para a identificação dos compostos fenólicos em extratos etanólicos das cascas de coco anão amarelo, cascas e frutos de pimenta rosa, em comparação com padrões ácidos gálico, vanílico, cafeíco e cumárico, quercetina, catequina, epicatequina e resveratrol. As análises foram executadas utilizando um cromatógrafo Shimadzu (série VP, Quito, Japão), Bomba (LC-20AT vp), coluna Shimadzu VP-ODS C18 (250 L x 4,6 mm), com sistema de detecção UV/vis (SPD-M20A) e software (LC-solution).

Procedimentos para análise do EEAA:

Inicialmente foi preparado o solvente A da fase móvel: (água ultrapura (18 MΩ) de um sistema de purificação Milli-Q da Milipore Inc. acidificada com ácido acético a 0,1% (v/v) filtrado por meio de um sistema de filtração a vácuo, usando uma membrana de filtração PTEF (diâmetro 13 mm e poro 0,45 μm). O solvente B foi acetonitrila (grau CLAE). As fases móveis foram utilizadas por meio de um sistema de gradiente de eluição (Tabela 10). As análises foram realizadas nas seguintes condições: fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, temperatura da coluna a 40 °C, comprimento de onda 254 nm, volume de injeção 20 μL, tempo total da análise foi de 60 minutos para cada injeção.

Procedimentos para análise do ECPR e EFPR:

Inicialmente foi preparado o solvente A da fase móvel: (água ultrapura (18 MΩ) de um sistema de purificação Milli-Q da Milipore Inc. acidificada com ácido acético a 0.5% (v/v) filtrado por meio de um sistema de filtração a vácuo usando uma membrana de filtração PTEF (diâmetro 13 mm e poro 0,45 μm), o solvente B foi acetonitrila (grau

CLAE). As fases móveis foram utilizadas por meio de um sistema de gradiente de eluição (Tabela 11), e as análises foram realizadas nas seguintes condições: fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, temperatura da coluna a 36°C, comprimento de onda 280 nm, volume de injeção 20 µL, tempo total da análise foi de 40 minutos para cada injeção.

Para os procedimentos com as amostras, o EEAA foi dissolvido nos solventes da fase móvel (4 mg mL<sup>-1</sup>). Os extratos ECPR e EFPR foram dissolvidos nos solventes da fase móvel (5 mg mL<sup>-1</sup>). Todos os extratos foram filtrados em membrana de nylon de 0,45 µm antes de cada injeção no CLAE. As soluções dos padrões fenólicos foram preparadas na concentração de 0,5 mg mL<sup>-1</sup>. A identificação dos compostos fenólicos nos extratos foi realizada por comparação dos tempos de retenção e por co-injeção dos padrões na amostra.

**Tabela 10 - Sistema de Gradiente das fases móveis utilizado nas análises de CLAE para o EEAA.**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Eluente A (ácido acético a 0.1%) (v/v) (%)</b>	<b>Eluente B (acetonitrila) (%)</b>
0 - 5	98	2
5 - 10	92,5	7,5
10 - 20	90	10
20 - 30	87,5	12,5
30 - 40	90	10
40 - 50	92,5	7,5
50 - 60	98	2

Fonte: AUTORA, 2019.

**Tabela 11 - Sistema de Gradiente das fases móveis utilizado nas análises de CLAE para ECPR e EFPR.**

<b>Tempo (min)</b>	<b>Eluente A (ácido acético a 0.5%) (v/v) (%)</b>	<b>Eluente B (Acetonitrila) (%)</b>
0	0	0
5	85	15
10	80	20
15	70	30
20	60	40
25	50	50
30	70	30
40	85	15

Fonte: AUTORA, 2019.

## 4.2.8 Avaliação da capacidade antiglicante

### 4.2.8.1 Sistema BSA - Glicose/Frutose

O ensaio foi realizado de acordo com o método descrito por Melo e colaboradores (2015), com algumas modificações. Inicialmente, foram preparadas soluções de BSA (3 mg mL<sup>-1</sup>), glicose (200 mM), frutose (200 mM) e as soluções dos EEAA (1–33 µg mL<sup>-1</sup>), ECPR e EFPR (2,5–50 µg mL<sup>-1</sup>), preparadas em concentrações diferentes para a determinação dos valores de IC<sub>50</sub>. As soluções foram preparadas em tampão fosfato (50 mM, pH 7,4, NaCl 100 mM, com azida de sódio 0,02% (m/v)). O sistema consistiu na adição de 500 µL da mistura de glicose e frutose, 500 µL das diferentes concentrações das amostras, e em seguida, foram adicionados 500 µL da solução de BSA. Os sistemas reacionais foram incubados a 37 °C, com agitação constante durante 7 dias. O tampão fosfato (pH 7,4) foi utilizado como controle negativo e a aminoguanidina (2,5 – 100 µg mL<sup>-1</sup>), como controle positivo. As análises foram realizadas em triplicata e a intensidade de fluorescência a 37 °C, obtida, utilizando-se um espectrofluorímetro RF- 5301PC (Shimadzu, Japão), em  $\lambda_{ex} = 360$  e  $\lambda_{em} = 440$  nm. O IC<sub>50</sub> foi calculado graficamente, usando uma curva de calibração, traçando a concentração do extrato *versus* a porcentagem de inibição correspondente (I%). A porcentagem de inibição dos AGEs foi calculada, utilizando-se a seguinte fórmula:  $I\% = (F_{controle\ negativo} - F_{controle\ experimental\ corrigida} / F_{negativo}) \times 100$ , onde o  $F_{controle\ negativo}$  é a fluorescência para o controle negativo e  $F_{experimental\ corrigida}$  é a fluorescência do sétimo dia subtraída da fluorescência do primeiro dia.

### 4.2.8.2 Sistema BSA - MG

O ensaio foi realizado de acordo com o método descrito por Wang e colaboradores (2011), com algumas modificações. Primeiramente, preparou-se as soluções de metilgloxal (1,5 mM) e de BSA (3 mg mL<sup>-1</sup>), e as soluções dos EEAA, ECPR e EFPR, em diferentes concentrações (1–33 µg mL<sup>-1</sup>), para a determinação do IC<sub>50</sub>. As soluções foram preparadas em tampão fosfato (50 mM, pH 7,4, NaCl 100 mM, com azida de sódio 0,02% (m/v)). O sistema consistiu na adição de 500 µL da solução de metilgloxal (1,5 mM) a 500 µL da solução das amostras em diferentes concentrações e mantidas a 37 °C por 1 h, no escuro. Em seguida, adicionou-se BSA

(3 mg mL<sup>-1</sup>) em cada sistema. Os sistemas reacionais foram incubados no escuro a 37 °C com agitação constante durante 2 dias. O tampão fosfato (pH 7,4), foi utilizado como controle negativo, e a aminoguanidina (1,5 – 50 µg mL<sup>-1</sup>), como controle positivo. As análises foram realizadas em triplicata, utilizando um espectrofluorímetro RF-5301PC (Shimadzu, Japão) a ( $\lambda_{ex} = 360$  e  $\lambda_{em} = 440$  nm). O IC<sub>50</sub> foi calculado graficamente, usando uma curva de calibração, traçando a concentração do extrato *versus* a porcentagem de inibição correspondente (I%). A porcentagem da inibição dos AGEs foi calculada usando a mesma fórmula do sistema BSA-glicose/frutose.

#### 4.2.8.3 Sistema Colágeno - Glicose/Frutose

O ensaio foi realizado de acordo com o método descrito por Hori e colaboradores (2012), com algumas modificações. Inicialmente, foram preparadas soluções de colágeno (3 mg/mL), glicose (200 mM), frutose (200 mM), do EEAA, ECPR e EFPR (1–25 µg mL<sup>-1</sup>), para a determinação do IC<sub>50</sub>. As soluções foram preparadas em tampão fosfato (50 mM, pH 7,4, NaCl 100 mM, com ázida de sódio 0,02% (m/v)). O sistema consistiu na adição de 500 µL da mistura de glicose e frutose, 500 µL das diferentes concentrações das amostras, e em seguida, foram adicionados 500 µL da solução de colágeno. Os sistemas reacionais foram incubados a 37 °C, com agitação constante durante 7 dias. O tampão fosfato (pH 7,4) foi utilizado como controle negativo e a aminoguanidina (5–200 µg mL<sup>-1</sup>), como controle positivo. As análises foram realizadas em triplicatas e a intensidade de fluorescência a 37 °C, utilizando um espectrofluorímetro RF-5301PC (Shimadzu, Japão) a ( $\lambda_{ex} = 370$  e  $\lambda_{em} = 440$  nm). O IC<sub>50</sub> foi calculado graficamente, usando uma curva de calibração, traçando porcentagem de inibição correspondente (I%) *versus* a concentração do extrato. A porcentagem da inibição dos AGEs foi calculada, usando a mesma fórmula do sistema BSA-glicose/frutose.

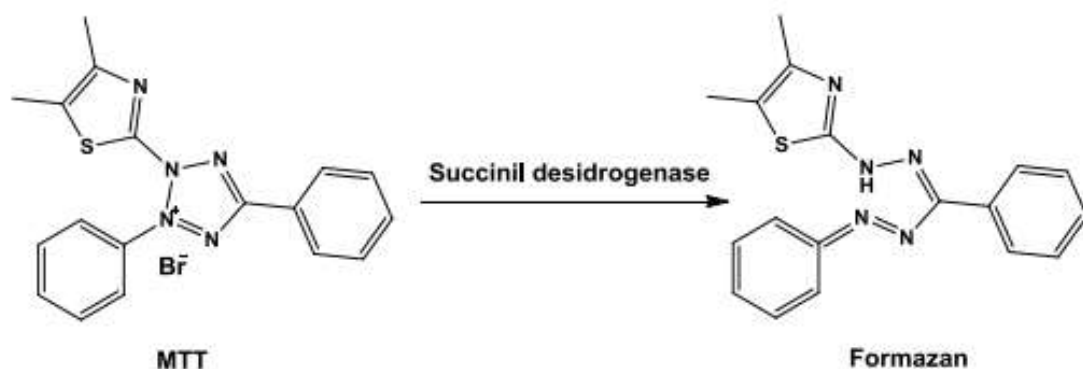
#### 4.2.9 Ensaio de viabilidade celular

O efeito citotóxico dos extratos EEAA, ECPR e EFPR foi determinado por meio do ensaio de brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT). Para o EEAA, a viabilidade foi investigada frente a linhagem de macrófagos (J774) de acordo com a metodologia descrita por Mosmann (1983). Já, a determinação do efeito

citotóxico dos extratos ECPR e EFPR foi realizado utilizando células HTR-8SV/ neo linha celular da placenta derivadas das células trofoblásticas de placenta e explante de placenta.

O ensaio se baseia na redução celular do sal MTT em cristais de formazan, de coloração violeta (Figura 18), pela ação da enzima succinato desidrogenase presente na mitocôndria de células viáveis. Assim, a quantidade de cristais formados é diretamente proporcional ao número de células viáveis.

**Figura 18 - Conversão do MTT para formazan pela succinil desidrogenase.**



Fonte: Adaptado de MOSMANN et al., 1983.

Para avaliação da citotoxicidade do EEAA, as células de macrófagos foram, inicialmente, distribuídas em placas de 96 poços ( $1,5 \times 10^5$  células/poço) e incubados durante a noite a  $37^\circ \text{C}$ . Após esse período, as células aderentes foram tratadas com EEAA em diferentes concentrações ( $10, 50$  e  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) dissolvidos em PBS + DMSO ( $0,037\%$  (m/v)) em meio de cultura (RPMI – 1640 suplementado com  $10\%$  (m/v) de soro bovino fetal) e foram posteriormente cultivados durante  $24 \text{ h}$  a  $37^\circ \text{C}$ . Em seguida, o meio foi substituído por novo meio RPMI contendo  $5 \text{ mg mL}^{-1}$  de MTT. Após  $4 \text{ h}$  de incubação a  $37^\circ \text{C}$ , o sobrenadante foi removido e  $150 \mu\text{L}$  de DMSO foram adicionados em cada poço. Após  $15 \text{ min}$  de incubação à temperatura ambiente, a absorvência do produto de formazan foi medida espectrofotometricamente, a  $540 \text{ nm}$ . Quatro poços individuais foram avaliados por tratamento e a atividade de redução do MTT foi determinada como percentagem de células controle ( $[\text{absorvência de células tratadas}/\text{absorvência de células não tratadas}] \times 100$ ).

Para a avaliação da citotoxicidade dos extratos de pimenta, primeiramente as células HTR-8SV/ neo ou explante de vilosidades coriônicas foram plaqueadas em uma placa de 96 poços, com meio DMEM-F12 a 5% de Soro Bovino Fetal por 24 horas. Após as 24 horas, foi retirado o meio de cultura e feito o tratamento com os extratos ECPR e EFPR diluídos em meio de cultura DMEM-F12 em diferentes concentrações (0,01; 0,1; 1; 10 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e cultivadas por 24 horas. Depois foram adicionados nos poços 23  $\mu\text{l}$  de MTT, a solução foi realizada na dissolução de 5mg de MTT em 1000 $\mu\text{l}$  meio de cultura DMEM-F12, e foi mantida ao abrigo da luz por 4 horas a 37°C. Logo após, foi retirado o tratamento, adicionado 150 $\mu\text{l}$  de DMSO por poço e realizado as medidas de absorvência do produto pelo espectrofotômetro a 540 nm. A porcentagem de viabilidade foi determinada como porcentagem de células controle ([absorvência de células tratadas/absorvência de células não tratadas] x 100).

#### **4.2.10 Preparo das formulações com extratos etanólicos de *Cocos nucifera* e *Schinus terebinthifolius* Raddi**

Os extratos etanólicos das fibras das cascas do coco, da casca e fruto da pimenta foram solubilizados em etanol P.A até sua completa dissolução, em seguida, foram incorporados ao creme base Lanette (adquirido em farmácia de manipulação do mercado local) com o auxílio de um gral de porcelana e pistilo, variando as concentrações de 5 a 20% (m/m) para as formulações com EEAA e 5 a 10% (m/m) para o ECPR e EFPR.

Do mesmo modo, formulações foram preparadas contendo padrão químico comercial benzofenona-3 ou padrão fenólico quercetina, ambos na concentração a 5% (m/m), para fins de comparação. Adicionalmente, formulações contendo a mistura do padrão químico comercial e EEAA, ECPR e EFPR foram preparadas nas concentrações (4:1) e (1:1), para cada associação. Tais formulações foram codificadas conforme a Tabela 12 e armazenadas a temperatura ambiente. Após 24h as formulações foram submetidas à avaliação do FPS, como descrito no item 4.2.6). A base Lanette foi usada como branco. As análises foram realizadas em triplicata.

**Tabela 12 - Códigos de identificação das formulações preparadas a partir dos extratos e padrões filtro comercial e fenólico.**

<b>Formulação</b>	<b>Princípio ativo (m/m)</b>
	<b>(Extrato de <i>Cocos nucifera</i> L.)</b>
CEEAA5	Creme + Extrato Etanólico Anão Amarelo 5%
CEEAA10	Creme + Extrato Etanólico Anão Amarelo 10%
CEEAA20	Creme + Extrato Etanólico Anão Amarelo 20%
	<b>(Extrato de Pimenta rosa (<i>Schinus terebinthifolius</i> ))</b>
CECPR5	Creme + Extrato Etanólico Casca Pimenta Rosa 5%
CECPR10	Creme + Extrato Etanólico Casca Pimenta Rosa 10%
CEFPR5	Creme + Extrato Etanólico Fruto Pimenta Rosa 5%
CEFPR10	Creme + Extrato Etanólico Fruto Pimenta Rosa 10%
	<b>(Filtro solar comercial e padrão fenólico)</b>
CB5	Creme + Benzofenona-3 5%
CQ5	Creme + Quercetina 5%
	<b>(Filtro solar comercial + extratos)</b>
CB4 + EEAA1	Creme + Benzofenona-3 4% + Extrato Etanólico anão amarelo 1%
CB2,5 + EEAA2,5	Creme + Benzofenona-3 2,5% + Extrato Etanólico Anão Amarelo 2,5%
CB4 + ECPR1	Creme + Benzofenona-3 4% + Extrato Casca Pimenta Rosa 1%
CB2,5 + ECPR 2,5	Creme + Benzofenona-3 2,5% + Extrato Casca Pimenta Rosa 2,5%
CB4 + EFPR1	Creme + Benzofenona-3 4% + Extrato Fruto Pimenta Rosa 1%
CB2,5 + EFPR 2,5	Creme + Benzofenona-3 2,5% + Extrato Fruto Pimenta Rosa 2,5%

Fonte: AUTORA, 2019.

#### **4.2.11 Fotoestabilidade**

A avaliação da fotoestabilidade consiste em obter informações sobre possíveis alterações no produto, quando estes são expostos à radiação ultravioleta artificial (BRASIL, 2012; UNITED STATES, 2011). Em nossos estudos, a determinação da fotoestabilidade dos extratos e das formulações protetoras foi avaliada por meio das técnicas de espectroscopia de absorção e espectroscopia no infravermelho – FTIR-ATR. O sistema de iluminação UVA/UVB utilizado nesse estudo foi desenvolvido no Instituto de física da Universidade Federal de Alagoas e gentilmente cedido pelo professor Ítalo Nunes de Oliveira. As análises espectrofotométricas foram realizadas no Laboratório de Eletroquímica e Estresse Oxidativo (LEEO) na UFAL, e as análises espectroscópicas no infravermelho foram realizadas no Instituto Federal de Alagoas – Campus Maceió.

#### 4.2.11.1 Irradiação das amostras

A determinação da fotoestabilidade dos extratos e formulações foi realizada de acordo com o método descrito por Fernandes (2014), com algumas modificações.

Inicialmente foram pesados 0,1 g de cada extrato e das formulações, e espalhados de forma homogênea em uma lamínula devidamente limpa com o auxílio de uma espátula metálica com a lateral reta, para obtenção de um filme fino. Em seguida, após a preparação dos filmes, os mesmos foram submetidos à radiação UVA/UVB por um tempo de exposição de 30, 60, 90 e 120 minutos, em um sistema de iluminação que consiste em uma caixa de madeira completamente fechada com as paredes internas pretas, contendo em suas laterais duas lâmpadas: uma UVA que emite radiação na faixa de 320 a 400 nm, com uma potência de 30 W, da SCT e outra UVB, Medical Broadband TL 40 W/12 da Philips, que emite radiação na faixa de 290 a 315 nm. Após a irradiação, as amostras foram submetidas às análises de espectroscopia de absorção no UV-VIS e espectroscopia no infravermelho – FTIR-ATR.

#### 4.2.11.2 Preparo das amostras para as medidas em espectrofotômetro UV-VIS

Após o período de irradiação dos filmes, as lamínulas foram removidas da câmara UV, e seus conteúdos foram recolhidos, pesados e solubilizados em 1 mL de etanol P.A., obtendo-se uma solução estoque 0,1 g mL<sup>-1</sup>. Em seguida, uma diluição foi preparada na concentração de 5 mg mL<sup>-1</sup>. As amostras foram analisadas em espectrofotômetro conforme o método de Mansur (1986) para obtenção dos valores de FPS, utilizando-se as mesmas condições previamente descritas no item 4.2.9. As medidas foram realizadas no tempo inicial (t = 0), sem irradiação e após a exposição à radiação nos tempos 30, 60, 90 e 120 minutos. Os procedimentos foram realizados em triplicata e todas as amostras foram protegidas da luz antes e depois da irradiação.

#### 4.2.11.3 Preparo das amostras para as medidas de espectroscopia no infravermelho (FTIR – ATR).

A determinação dos espectros na região do infravermelho dos filmes preparados com extratos e formulações no tempo = 0 (antes da irradiação) e após a



exposição à radiação nos tempos 30, 60, 90 e 120 minutos foi realizada por espectroscopia de refletância total atenuada com transformada de Fourier (ATR – FTIR), utilizando um espectrômetro (IRAffinity-1, Shimadzu), na faixa de 500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  e número de scans de 64. Os resultados foram expressos em porcentagem de transmitância do infravermelho.

#### **4.2.12 Estudo da estabilidade das formulações fotoprotetora**

Este estudo tem como objetivo fornecer dados para prever a estabilidade do produto e tempo de vida útil estimada à temperatura ambiente (ANVISA, 2004). As formulações com extratos e padrões incorporados, que apresentaram resultados satisfatórios nas análises de FPS, foram submetidas ao teste de estabilidade. O teste de estabilidade foi realizado de acordo com o guia de estabilidade de produtos cosméticos da Anvisa (2004), com avaliação das características físicas e funcionais das formulações, por um período de 90 dias.

Aproximadamente 10 g das formulações CEEAA5, CECPR5, CEFPR10, CBZ5 e CQ5 foram acondicionadas em potes de polipropileno fechado. As formulações foram armazenadas à temperatura ambiente ( $25 \pm 2,0 \text{ }^\circ\text{C}$ ), durante um período de 90 dias. Durante o período de armazenamento as formulações foram avaliadas nos tempos  $t_0$ ,  $t_{30}$ ,  $t_{60}$  e  $t_{90}$  dias, quanto aos parâmetros:

- Organolépticos (aspecto, cor e odor);
- Físico-químico (valor de pH) A determinação do pH foi feita por meio de uma solução de cada formulação preparada a 10% (m/v) em água destilada. As medidas foram realizadas em pHmetro digital (Putek), previamente calibrado com soluções tampão pH 4 e 7. As análises foram realizadas em triplicata.
- Funcional (eficácia fotoprotetora FPS)

#### **4.2.13 Análise estatística**

Os ensaios foram realizados em triplicata para cada amostra e os resultados foram expressos como média e desvio padrão. A avaliação estatística foi realizada por análise de variância ANOVA, seguida de teste Tukey, no nível de significância de 95%, empregando-se o software Graphpad Prism 5.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Rendimento dos extratos

Os rendimentos das extrações para a obtenção do extrato etanólico das fibras das cascas de coco anão amarelo, realizado por processo de maceração, e dos extratos etanólicos das cascas e frutos de pimenta rosa, por extração Soxhlet, encontram-se listados na Tabela 13.

**Tabela 13 - Rendimentos das extrações etanólicas**

<b>Extratos</b>	<b>Códigos</b>	<b>Rendimento (%)</b>
Extrato etanólico fibras das cascas coco anão amarelo	EEAA	7,75
Extrato etanólico casca de pimenta rosa	ECPR	20,13
Extrato etanólico fruto de pimenta rosa	EFPR	19,16

Fonte: AUTORA, 2019.

Observa-se na Tabela 13, que os extratos das fibras das cascas de coco e da pimenta rosa apresentaram valores de rendimentos próximos aos valores observados para estas espécies na literatura (SILVA et al., 2013). Os valores de rendimentos obtidos para os extratos da casca e frutos de pimenta rosa foram próximos. Costa (2011), usando extração por soxhlet registrou valor de 20,17% para extratos etanólicos de sementes/ fruto desta espécie.

### 5.2 Conteúdo total de fenóis e capacidade antioxidante frente ao radical DPPH• e pelo método de FRAP.

O processamento de alimentos vegetais em sua maioria resulta na produção de subprodutos que são fontes ricas em compostos bioativos, incluindo os compostos fenólicos. Estes compostos, por sua vez, apresentam potencial antioxidante, onde resíduos agrícolas e industriais podem ser utilizados como fontes naturais dessas substâncias (BALASUNDRAN et al., 2006; MELO et al., 2011).

No presente trabalho, o CTF foi avaliado pelo método de Folin-Ciocalteu e a determinação da capacidade antioxidante, pelos métodos de DPPH• e FRAP.

A Tabela 14 apresenta os resultados obtidos para CTF e capacidade antioxidante pelos métodos de DPPH• e FRAP, para os extratos etanólicos das fibras das cascas do coco, na variedade anão amarelo e de pimenta rosa (cascas e frutos).

**Tabela 14 - Conteúdo total de fenóis (CTF), DPPH• (ASR% e IC<sub>50</sub>) e FRAP dos extratos etanólicos de fibras das cascas de coco anão amarelo e pimenta rosa (cascas e frutos).**

Extrato	CTF	DPPH•		FRAP
	(mg EAG*g <sup>-1</sup> extrato seco)	ASR %**	IC <sub>50</sub> (µg mL <sup>-1</sup> )	(µmol ET g <sup>-1</sup> *** extrato seco)
EEAA	673,9 ± 37,0	74,9 ± 0,4	6,6 ± 0,6	3287,0 ± 134,0
ECPR	452,5 ± 10,2	78,4 ± 0,9	6,1 ± 0,4	3484,7 ± 255,5
EFPR	73,6 ± 10,4	24,1 ± 0,5	-	488,6 ± 81,1

EEAA = Extrato etanólico fibras das cascas coco anão amarelo; ECPR = Extrato etanólico casca de pimenta rosa; EFPR = Extrato etanólico fruto de pimenta rosa; \*Equivalentes de ácido gálico. \*\* Atividade sequestradora de radicais (DPPH•). \*\*\* Equivalentes de Trolox (ET)

Fonte: AUTORA, 2019.

A partir dos resultados obtidos na Tabela 14, observa-se que o conteúdo total de fenóis variou de 73,6 a 673,9 EAG g<sup>-1</sup>, em extrato seco. Os extratos etanólicos das fibras das cascas de coco anão amarelo e da casca da pimenta rosa foram os que mais se destacaram com valores de 673 e 452 mg EAG g<sup>-1</sup> extrato seco, respectivamente. O extrato do fruto da pimenta rosa apresentou o menor conteúdo total de fenóis, em relação aos extratos analisados, em torno de 73,6 mg EAG g<sup>-1</sup> extrato seco.

Segundo Oliveira e colaboradores (2009), diversos fatores como condições climáticas (temperatura e umidade), região de cultivo, época de colheita, crescimento, grau de maturação e variedade da planta, peculiaridades do processamento e métodos de extração, podem interferir nos resultados de teor de compostos fenólicos.

Alguns desses aspectos podem ser observados ao comparar os estudos realizados por Valadez-Carmona e colaboradores (2016), no qual foi encontrado valor de CTF de 64,2 mg EAG g<sup>-1</sup> ext. seco, para o extrato das fibras das cascas de coco jovem. Já, em trabalhos realizados por Dey e colaboradores (2003), foi encontrado um valor de CTF de 13,0 mg EAG g<sup>-1</sup> extrato seco, em extrato etanólico de fibras da

casca do coco maduro. Estes valores se apresentam abaixo ao valor encontrado no presente trabalho.

Em estudos realizados por Tlili e colaboradores (2018), os extratos dos frutos de *Schinus terebinthifolius* de duas localidades na Tunísia, apresentaram valores de CTF de 35,23 e 32,39 mg EAG g<sup>-1</sup> extrato seco. Já em nosso trabalho o extrato com os frutos de pimenta rosa apresentou um valor mais elevado.

Vários estudos demonstraram que cascas de frutas e de vegetais podem conter maiores quantidades de compostos fenólicos que a parte comestível (polpa) e sementes (BALASUNDRAM et al. 2006; HENRIQUEZ et al., 2010). Este fato pode ser evidenciado diante dos resultados de CTF (Tabela 14), onde o extrato obtido a partir das cascas apresentou valor superior de CTF em relação ao extrato preparado com fruto completo. Resultado semelhante também foi observado no trabalho realizado por Costa (2011), que demonstrou que o extrato etanólico das cascas de pimenta rosa, obtido a partir da extração utilizando soxhlet, apresentou teor total de fenóis de 323,79 mg EAG g<sup>-1</sup> ext. seco, sendo maior em comparação com o extrato preparado com as sementes/frutos que apresentou um valor de 20,21 mg EAG g<sup>-1</sup> ext. seco.

Estudos realizados com outras cascas de frutas também demonstraram ter maior teor de fenóis totais que na parte comestível. Para fins de comparação, a Tabela 15 apresenta alguns trabalhos realizados para a determinação total de fenóis em resíduos de frutas (cascas e frutos), encontrados na literatura.

**Tabela 15 - Conteúdo total de fenóis de resíduos de frutas e vegetais (cascas, frutos e**

<b>Amostras</b>	<b>CTF (mg EAG g<sup>-1</sup> de extrato)</b>	<b>Referências</b>
Extrato acetato de etila das cascas de cajá-manga	463,6 ± 0,02	RATNAYAKE et al., 2019
Extrato acetato de etila de sementes de cajá-manga	205,6 ± 0,06	RATNAYAKE et al., 2019
Extrato metanólico das cascas de romã	103,2 ± 2,77	ALI et al., 2014
Extrato metanólico dos frutos inteiros de romã	81,8 ± 1,44	ALI et al., 2014

Fonte: AUTORA, 2019.

A Tabela 14 lista os resultados para a determinação da capacidade antioxidante dos extratos etanólicos das fibras das cascas do coco, das cascas e frutos de pimenta rosa, por meio da atividade sequestradora do radical DPPH•, dos valores de IC<sub>50</sub> (concentração de inibição do radical DPPH• em 50%) e pelo método de FRAP. No ensaio de DPPH•, os extratos mostraram uma variação de 24,1 a 78,4%, sendo o ECPR que apresentou o maior percentual de inibição, seguindo do EEAA com 74,9%. O EFPR foi o que apresentou o menor percentual de inibição, apenas 24,1%.

Em relação à concentração necessária para reduzir em 50% o radical DPPH•, o ECPR e o EEAA apresentaram valores de IC<sub>50</sub> semelhantes ( $6,1 \pm 0,4$  e  $6,6 \pm 0,6$   $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente). Já, o EFPR não atingiu o IC<sub>50</sub> na concentração avaliada. Comparando os dados do presente trabalho com os dados obtidos na literatura, Alviano e colaboradores (2008) determinaram a capacidade antioxidante do extrato aquoso da fibra da casca de coco, utilizando o método de DPPH•, e encontraram um valor de IC<sub>50</sub> em torno de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ . No presente trabalho o valor de IC<sub>50</sub> foi menor, ressaltando a maior capacidade de sequestro de radicais.

Em trabalhos de Degaspari e colaboradores (2004), a capacidade antioxidante de extrato etanólico dos frutos de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*) foi determinada utilizando o método de DPPH• e encontraram valor de ASR de 53%. Em nosso trabalho o extrato etanólico dos frutos de pimenta rosa demonstrou uma atividade apenas em torno de 24%. Já para o extrato obtido a partir da casca de pimenta rosa do presente estudo demonstrou um valor de ASR próximo ao valor encontrado por Bernardes e colaboradores (2011), com 87,6% para o extrato metanólico das cascas dos frutos.

A capacidade antioxidante dos extratos etanólicos do coco e de pimenta rosa também foi avaliada pelo método de FRAP. Os resultados apresentados na Tabela 14 demonstraram que os valores obtidos para o ensaio de FRAP, variaram de 488,6 a 3484,7  $\mu\text{mol ET g}^{-1}$  de extrato seco. Os extratos ECPR e EEAA apresentaram valores próximos, com 3484,7 e 3287,0  $\mu\text{mol ET g}^{-1}$  de extrato seco, respectivamente. Já, o EFPR foi o que apresentou o menor poder de redução do ferro.

Em outros trabalhos na literatura alguns autores também encontraram valores de FRAP maiores para o extrato obtido com cascas. Ali e colaboradores (2014), avaliaram os extratos de diversas partes de *Punica granatum* L (casca, polpa, sementes e frutos inteiros), sendo o extrato da casca o que apresentou a maior capacidade redutora. Segundo os autores, a maior capacidade antioxidante exibida

pelo extrato foi atribuída aos compostos fenólicos presentes no extrato da casca e que não foram observados nos outros extratos.

De maneira geral, em nosso trabalho os extratos apresentaram um alto teor de compostos fenólicos, se destacando os EEAA e ECPR. Já o EFPR foi que apresentou o menor teor total de fenóis, e menor capacidade antioxidante analisada nos métodos utilizados.

### **5.3 Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) dos extratos etanólicos e formulações**

Os valores de FPS determinados para os extratos e formulações das fibras das cascas de coco anão amarelo, das cascas e frutos de pimenta rosa em função da concentração e dos percentuais de extrato incorporados ao creme base, em comparação com os resultados obtidos com o padrão quercetina (CQ) e benzofenona-3 (CB), se encontram na Tabela 16.

A partir dos resultados obtidos, observa-se que os valores de FPS para o EEAA variaram de 9,99 a 28,18. enquanto para o ECPR, os valores foram de 20,15 a 26,82 e o EFPR com 5,08 a 16,41. Para as formulações protetoras preparadas com incorporação de EEAA a 5, 10 e 20% (m/m) os valores de FPS foram de 0,82 a 31,87. As formulações preparadas com incorporação dos ECPR e EFPR a 5 e 10% (m/m), apresentaram valores variando de 1,25 a 32,40 e 0,24 a 31,58, respectivamente. As formulações protetoras preparadas com os padrões benzofenona-3 e quercetina, ambas a 5% (m/m) apresentaram valores variando de 9,76 a 35,90 e 2,88 a 30,09, respectivamente.

Analisando os resultados, observou-se que o potencial fotoprotetor dos extratos e formulações variou de acordo com a concentração e os percentuais de extratos incorporados, comprovando a existência de uma relação dose-dependente, em que o aumento da concentração resulta no aumento do FPS. No entanto, o FPS pode apresentar valores constantes, quando os níveis de saturação das espécies são alcançados (RIBEIRO, 2006).

Nesse estudo foi possível observar que os extratos apresentaram valores satisfatórios de FPS, com destaque para o ECPR e EEAA que em baixas diluições demonstraram valores superiores ao exigido pela Anvisa, com níveis de saturação dos raios UVB girando em torno de 2 e 5 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente, e além disso, podem

ser comparados com os valores de FPS obtidos pelo filtro comercial benzofenona-3 e o padrão fenólico quercetina. Já o EFPR foi o que apresentou os menores valores de FPS com nível saturação em torno de 2 mg mL<sup>-1</sup>.

**Tabela 16 - Fator de proteção solar (FPS) dos extratos etanólicos das fibras da casca do coco anão amarelo, cascas e frutos de pimentas, e suas formulações.**

Amostras	Diluições (mg mL <sup>-1</sup> )				
	0,2	2	5	10	15
<b>Fibra da casca do coco anão amarelo</b>					
EEAA	9,99 ± 0,17 <sup>b</sup>	20,95 ± 1,03 <sup>b</sup>	28,18 ± 1,98 <sup>b</sup>	24,74 ± 0,84 <sup>b, c</sup>	23,00 ± 0,57 <sup>b, c</sup>
CEEAA5	0,98 ± 0,35 <sup>d</sup>	4,44 ± 0,14 <sup>d</sup>	15,66 ± 0,40 <sup>d</sup>	30,04 ± 1,73 <sup>a, b</sup>	28,46 ± 1,28 <sup>a, b</sup>
CEEAA10	1,14 ± 0,04 <sup>d</sup>	7,02 ± 0,23 <sup>d</sup>	23,78 ± 1,22 <sup>c</sup>	28,22 ± 3,58 <sup>a, b</sup>	31,87 ± 3,01 <sup>a</sup>
CEEAA20	0,82 ± 0,58 <sup>d</sup>	16,33 ± 3,97 <sup>c</sup>	28,31 ± 2,47 <sup>b</sup>	29,62 ± 2,83 <sup>a, b</sup>	30,20 ± 2,55 <sup>a</sup>
<b>Casca de pimenta rosa</b>					
ECPR	24,84 ± 0,76 <sup>a</sup>	26,82 ± 1,15 <sup>b</sup>	23,80 ± 0,94 <sup>c</sup>	21,72 ± 0,71 <sup>c</sup>	20,15 ± 0,53 <sup>c</sup>
CECPR5	1,25 ± 0,56 <sup>d</sup>	15,38 ± 0,53 <sup>c</sup>	28,36 ± 2,50 <sup>b</sup>	32,21 ± 2,32 <sup>a</sup>	31,89 ± 2,40 <sup>a</sup>
CECPR10	2,70 ± 0,35 <sup>d</sup>	25,37 ± 1,47 <sup>b</sup>	32,40 ± 2,44 <sup>a, b</sup>	31,67 ± 1,93 <sup>a</sup>	29,67 ± 2,45 <sup>a</sup>
<b>Fruto de pimenta rosa</b>					
EFPR	5,08 ± 0,49 <sup>c</sup>	16,41 ± 1,33 <sup>c</sup>	14,86 ± 0,70 <sup>d</sup>	13,14 ± 0,48 <sup>d</sup>	11,50 ± 0,37 <sup>d</sup>
CEFPR5	0,52 ± 0,02 <sup>d</sup>	2,35 ± 0,07 <sup>d</sup>	5,60 ± 0,08 <sup>e</sup>	11,36 ± 0,32 <sup>d</sup>	17,40 ± 2,65 <sup>c, d</sup>
CEFPR10	0,24 ± 0,08 <sup>d</sup>	5,86 ± 0,08 <sup>d</sup>	14,89 ± 0,13 <sup>d</sup>	31,25 ± 0,21 <sup>a</sup>	31,58 ± 0,30 <sup>a</sup>
<b>Padrões</b>					
CB5	9,76 ± 1,24 <sup>a</sup>	33,09 ± 2,69 <sup>a</sup>	35,90 ± 0,90 <sup>a</sup>	33,73 ± 0,21 <sup>a</sup>	28,31 ± 3,61 <sup>a, b</sup>
CQ5	2,88 ± 0,13 <sup>d</sup>	21,57 ± 1,91 <sup>b</sup>	30,09 ± 3,18 <sup>a, b</sup>	30,02 ± 1,76 <sup>a</sup>	29,81 ± 1,60 <sup>a</sup>

EEAA = extrato etanólico anão amarelo, CEEAA = creme + extrato etanólico anão amarelo de 5 a 20% (m/m), ECPR = extrato etanólico das cascas de pimenta rosa, CECPR = creme + extrato etanólico da casca da pimenta rosa de 5 e 10% (m/m), EFPR = extrato etanólico dos frutos de pimenta rosa, CEFPR = creme + extrato etanólico dos frutos da pimenta rosa de 5 a 10% (m/m), CB5 = creme + benzofenona-3 a 5% (m/m) e CQ = creme + quercetina a 5% (m/m). Valores expressos em média + desvio (n=3). Letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (p<0,05).

Fonte: AUTORA, 2019.

De modo geral, as formulações apresentaram bons resultados de FPS, a partir da diluição de  $2 \text{ mg mL}^{-1}$ . Todas as formulações protetoras apresentaram valores de  $\text{FPS} \geq 6$ , exceto, para as formulações CEAA 5% (m/m), que apresentaram um FPS de  $4,44 \pm 0,14$ , e as formulações CEFPR 5 e 10% (m/m), que apresentaram valores de  $2,35 \pm 0,07$  e  $5,86 \pm 0,08$ . Para as formulações, foram observados níveis de saturação de absorção da radiação UVB, em torno de  $10 \text{ mg mL}^{-1}$ . Os valores de FPS aumentaram proporcionalmente com o aumento da concentração de EEAA e ECPR em cada formulação.

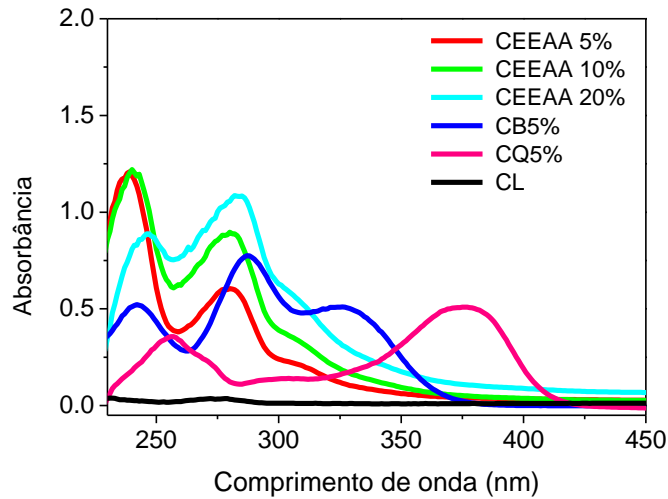
Nas Figuras 19 e 20 estão apresentados os espectros de absorção obtidos para as formulações protetoras preparadas com o EEAA, ECPR, EFPR, os padrões benzofenona-3 e quercetina, e também do creme Lanette caracterizados por espectrofotometria de absorção na região UV-vis.

Na Figura 19, é possível observar que as formulações preparadas com EEAA 5 a 20% apresentam bandas de absorção nas regiões UVC/UVB, em torno de 280 nm. Estes aspectos também foram observados para a formulação do padrão benzofenona-3 a 5%, um filtro químico comercial de amplo espectro, que possui duas bandas com máximos de absorção de radiações nas regiões UVB/UVA. Já, a formulação do padrão fenólico quercetina a 5%, conhecida pelo seu potencial antioxidante e também fotoprotetor, apresentou absorção da radiação UV, com máximos de absorvência no UVA/UVC e uma discreta banda na região UVB. Os espectros observados para os padrões utilizados no presente trabalho foram semelhantes aos relatados na literatura (SAEWAN et al., 2013; GONZALEZ et al., 2017). Verificou-se que o creme Lanette não absorvia na região estudada, assegurando que as absorções resultantes foram das formulações. O creme Lanette não apresenta bandas de absorção, nos comprimentos de onda entre 230 a 450 nm.

Para as formulações preparadas com extratos de casca e fruto da pimenta rosa 5 a 10%, respectivamente, foi possível observar que as formulações apresentaram bandas de absorção mais intensa na faixa entre 250 a 320 nm, região (UVB) (Figura 20).

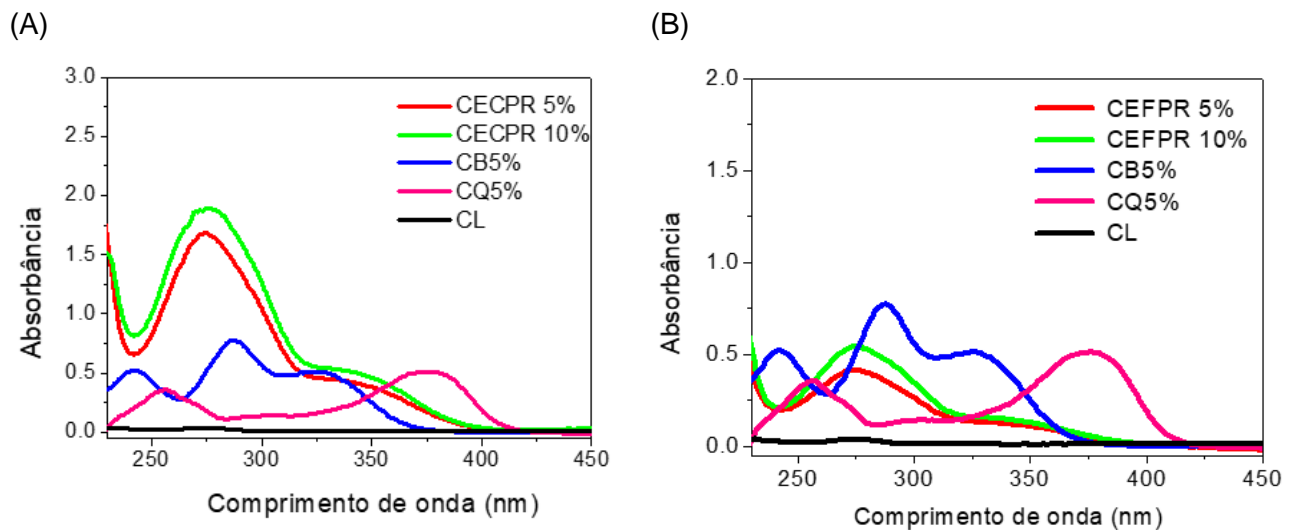


**Figura 19 - Espectros de absorção de UV-vis das formulações: Creme + EEAA 5, 10 e 20% (m/m) ( $2 \text{ mg mL}^{-1}$ ), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5) ( $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ), Creme + quercetina a 5% (CQ5) ( $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e Creme Lanette (CL).**



Fonte: AUTORA, 2019.

**Figura 20 - Espectros de absorção de UV-vis das formulações: (A) Creme + ECPR 5 e 10% (m/m) ( $2 \text{ mg mL}^{-1}$ ), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5) ( $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ), Creme + quercetina a 5% (CQ5) ( $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e Creme Lanette (CL) e (B) Creme + EFPR 5 e 10% (m/m) ( $2 \text{ mg mL}^{-1}$ ), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5) ( $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ), Creme + quercetina a 5% (CQ5) ( $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e Creme Lanette (CL).**



Fonte: AUTORA, 2019.

Diversos autores têm relacionado a ação fotoprotetora das espécies vegetais, com a presença de compostos fenólicos. Esses compostos absorvem na região UV e apresentam características estruturais semelhantes aos filtros químicos (AGATI et al., 2013; OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2017). Estudos realizados com extratos das fibras da casca de coco e frutos de pimenta rosa demonstraram que estas amostras apresentam compostos fenólicos como catequina, epicatequina, ácido gálico, rutina, ácido ferúlico, dentre outros (ESQUENAZI et al., 2002; VALADEZ-CARMONA et al., 2016; GLÓRIA et al., 2017).

Em estudos anteriores desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa, com extratos etanólicos das fibras das cascas de coco, estes demonstraram um alto potencial antioxidante. Análises preliminares do perfil químico do extrato etanólico da variedade anão amarelo revelaram a presença de compostos fenólicos quercetina e catequina (Oliveira et al., 2013). No presente trabalho, os extratos analisados demonstraram um alto teor de compostos fenólicos, e isso pode explicar parcialmente a sua ação fotoprotetora.

Diversas partes de plantas (flores, folhas, frutas e resíduos (cascas e sementes)), vêm sendo estudadas quanto à sua ação antioxidante e fotoprotetora (GREGORIS et al., 2011; WAGEMAKER et al., 2011; MARTO et al., 2016; MARTINS et al., 2016; LOURITH et al., 2017). Em estudos de Bulla e colaboradores (2015), o potencial fotoprotetor *in vitro* e a penetração percutânea *in vivo* dos extratos hidroetanólicos e formulações das folhas de *Schinus terebinthifolius* foram analisados. As soluções metanólicas dos extratos a 10 e 25% (p/v) apresentaram absorção UV com potencial fotoprotetor de UVB, com valores de FPS de 2,40 e 6,89, respectivamente. As medidas espectroscópicas confirmaram a absorção na região UV e a aplicação tópica das formulações não causou alterações histológicas na pele dos ratos.

O presente estudo é o primeiro a relatar o potencial fotoprotetor dos extratos das cascas e frutos desta espécie.

Para fins comparativos, a Tabela 17 apresenta alguns trabalhos registrados na literatura com valores de FPS de extratos das cascas e frutos de diversas espécies, e também de formulações preparadas a partir da incorporação dos extratos vegetais.

**Tabela 17 - Valores de FPS encontrados na literatura para extratos de cascas, frutos e formulações protetoras preparadas com extratos vegetais incorporados.**

Extrato	Fator de Proteção Solar		Referências
	Concentração (mg mL <sup>-1</sup> )	FPS	
EEAA	0,2	9,99 ± 0,17	PRESENTE TRABALHO
	2	20,95 ± 1,03	
ECPR	0,2	24,84 ± 0,76	PRESENTE TRABALHO
	2	26,82 ± 1,15	
EFPR	0,2	5,08 ± 0,49	PRESENTE TRABALHO
	2	16,41 ± 1,33	
Extrato metanólico de cascas de seriguela	0,2	2,70 ± 0,37	SILVA et al., 2016
	2	6,53 ± 0,31	
Extrato aquoso e metanólico de raiz de gengibre	A = (0,2 e 0,4)	1,44 ± 0,03 e	SUVA et al., 2014
		1,82 ± 0,15	
	M = (0,2 e 0,4)	1,48 ± 0,09	
		1,99 ± 0,03	
Extrato etanólico de chá verde	0,2	18,10 ± 0,05	KAUR et al., 2011

Formulações	Fator de Proteção Solar		Referências
	Concentração (mg mL <sup>-1</sup> )	FPS	
CEAA 5%	10	30,04 ± 1,73	PRESENTE TRABALHO
CECPR 5%	10	32,21 ± 2,32	PRESENTE TRABALHO
Creme com extrato metanólico de casca de seriguela a 5%	50	8,15 ± 0,07	SILVA et al., 2016

Fonte: AUTORA, 2019.

Pesquisas recentes sobre fotoproteção da pele têm relatado que a incorporação de extratos vegetais com ação antioxidante em formulações fotoprotetoras se apresenta como uma estratégia importante para se obter incrementos nos valores de FPS, em ação suplementar dos filtros sintéticos, uma vez que esses extratos possuem a capacidade de neutralizar ação dos radicais livres gerados no tecido epidérmico, após a exposição demasiada aos raios UV, além de

garantir ações emolientes e adstringentes ao produto, promovendo benefícios à saúde pelo potencial biológico que os produtos naturais apresentam (CHIARI et al., 2014; GONZÁLEZ et al., 2010), apesar da toxicidade evidenciada para alguns.

Neste trabalho, a avaliação da mistura entre o extrato e o filtro químico de referência, na proteção contra os raios UVB, também foi analisada (Tabela 19). Para tal, seis formulações foram preparadas e avaliadas nas concentrações 5 e 10 mg mL<sup>-1</sup>, sendo estas as melhores condições definidas, a partir dos valores de FPS obtidos pelas formulações preparadas só com extratos descritos na Tabela 16.

**Tabela 18 – Valores de FPS para as formulações contendo extratos + Benzofenona-3.**

Formulações	Diluições (mg mL <sup>-1</sup> )	
	5	10
<b>Fibra da casca do coco anão amarelo + Benzofenona-3</b>		
CB 4 + EEAA 1	30,55 ± 1,91 <sup>c</sup>	32,03 ± 3,56 <sup>d</sup>
CB 2,5 + EEAA 2,5	36,19 ± 2,51 <sup>b</sup>	38,19 ± 2,58 <sup>c</sup>
<b>Casca de pimenta rosa + Benzofenona-3</b>		
CB 4 + ECPR 1	40,81 ± 1,86 <sup>a</sup>	47,67 ± 1,58 <sup>a</sup>
CB 2,5 + ECPR 2,5	42,54 ± 2,92 <sup>a</sup>	37,67 ± 0,63 <sup>c</sup>
<b>Fruto de pimenta rosa + Benzofenona-3</b>		
CB 4 + EFPR 1	36,41 ± 0,49 <sup>b</sup>	43,28 ± 1,56 <sup>b</sup>
CB 2,5 + EFPR 2,5	38,01 ± 1,95 <sup>a,b</sup>	43,50 ± 2,83 <sup>a,b</sup>
<b>Benzofenona-3</b>		
CB5	30,09 ± 3.18 <sup>c</sup>	30,02 ± 1.76 <sup>d</sup>

CB4 + EEAA1 = creme + benzofenona-3 a 4 % + extrato etanólico anão amarelo a 1% (m/m).  
 CB2,5 + EEAA2,5 = creme + benzofenona-3 a 2,5 % + extrato etanólico anão amarelo a 2,5 % (m/m).  
 CB5 = creme + benzofenona-3 a 5% (m/m). Valores expressos em média + desvio (n=3). Letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (p<0,05).

Fonte: AUTORA, 2019.

Ao observar os valores de FPS na Tabela 18, verifica-se que o EEAA a 1% na presença da benzofenona – 3 a 4% (m/m) manteve os valores de FPS, obtidos pela benzofenona-3 a 5% (m/m) nas concentrações analisadas. Já, os ECPR a EFPR a 1% na presença da benzofenona-3 a 4% (m/m), provocaram um incremento nos valores de FPS nas concentrações analisadas. Ao reduzir a concentração da benzofenona-3 e incorporar o EEAA, o ECPR e EFPR (1:1), verifica-se que estas associações promovem uma intensificação dos valores de FPS nas duas

concentrações analisadas (5 e 10 mg mL<sup>-1</sup>), garantindo um aumento na eficácia do fotoprotetor, além de assegurar outras propriedades presentes nos extratos vegetais.

A incorporação de extratos vegetais em formulações cosméticas destinadas à proteção da pele contra os raios UV, possui um alto potencial no mercado atual, já que se associa à forte tendência das indústrias, de usar menos matérias-primas de origem sintética em suas preparações, associar ativos de origem vegetal, sem alterar a eficácia das formulações (POLONINI et al., 2014; MILANI et al., 2018)

Assim, os resultados obtidos são relevantes, uma vez que os fotoprotetores geralmente são preparados com filtros químicos, que podem causar diversas reações na pele. A redução da concentração desses produtos nas formulações torna-se uma estratégia para melhorar a qualidade do produto, sem que ocorra a diminuição da proteção contra os raios UV.

Outros trabalhos têm, também, analisado a presença dos extratos vegetais associados aos filtros sintéticos. Em estudos desenvolvidos por Mansur e colaboradores (2016), as análises de FPS *in vitro* e *in vivo* das formulações fotoprotetoras, preparadas com a associação dos filtros solares comerciais octilmetoxicinamato, octocrileno e benzofenona-3 a 5% e extratos etanólico e hidroacetônico obtidos a partir das folhas da espécie *Bauhinia microstachya* var. *massambabensis*, ambos incorporados a 1% em cada formulação, demonstraram que a presença dos extratos nas formulações contribuiu para um incremento nos valores de FPS, quando analisados *in vivo*, sugerindo que tal efeito é devido à ação antioxidante presente nos extratos.

Chiari e colaboradores (2014) estudaram a incorporação do óleo de café verde em formulações, contendo filtro químico metoxicinamato, e relataram que o óleo apresentou efeito sinérgico no valor de FPS, gerando um aumento em torno de 20%.

Milane e colaboradores (2018) avaliaram uma formulação fotoprotetora preparada com filtro químico 4-metoxicinamato de 2-etil-hexila a 8% e extrato hidroetanólico, obtido a partir dos resíduos dos frutos de *Psidium guajava* L., Myrtaceae (conhecido como goiaba), incorporado a 10% (m/m), e demonstraram que o fitocosmético apresentou um valor de FPS maior que o obtido pela formulação de referência, mostrando um incremento de 17,99% na eficácia da formulação fotoprotetora.

#### 5.4 Identificação dos compostos fenólicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

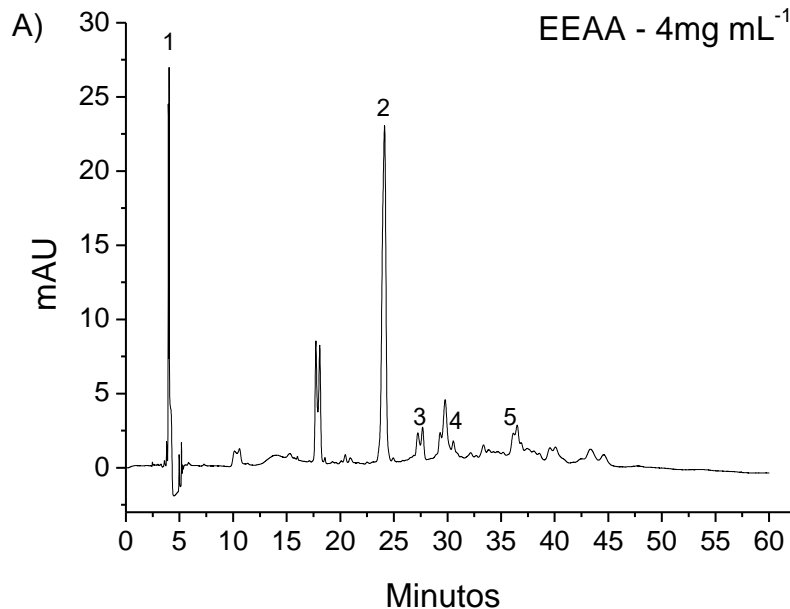
A técnica de CLAE tem sido amplamente utilizada para a detecção de compostos fenólicos em extratos vegetais, devido à sua versatilidade e precisão. Em geral, os compostos fenólicos são analisados, em um instrumento de CLAE, usando colunas C18 de fase reversa, um detector e solventes orgânicos polares acidificados (KUPPUSAMY et al., 2018). Neste trabalho, a identificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos da fibra de coco anão amarelo, nas cascas e frutos de pimenta rosa foi realizada, utilizando a técnica de CLAE. Os compostos foram identificados nos extratos EEAA, ECPR e EFPR por meio da comparação dos tempos de retenção entre padrões e amostras, e co-injeção dos padrões nos extratos ECPR e EFPR.

Em estudos anteriores realizados pelo nosso grupo de pesquisa, em análises preliminares sobre caracterização química do extrato de *Cocos nucifera* da variedade anão amarelo, também demonstraram a presença de compostos fenólicos como quercetina e catequina no extrato (OLIVEIRA et al., 2013).

A Figura 21 apresenta o cromatograma obtido para o extrato de coco (EEAA). No extrato foi possível verificar a presença dos compostos fenólicos quercetina, catequina, ácidos vanílico e cafeíco, e epicatequina, detectados a partir da comparação dos tempos de retenção entre amostra e padrões fenólicos (Tabela 19):

A presença dos compostos no extrato pode explicar parcialmente, de forma isolada ou sinérgica os efeitos antioxidante e fotoprotetor exercidos pelo extrato. Entretanto, estudos adicionais tornam-se necessários, visto que a amostra apresenta alguns picos ainda não identificados. A completa elucidação do perfil químico contribuirá para explicar as respectivas atividades biológicas.

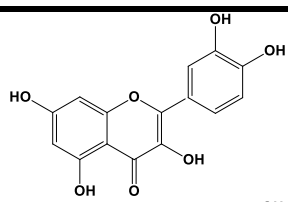
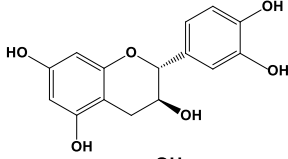
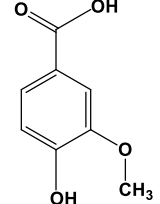
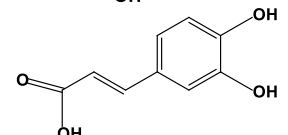
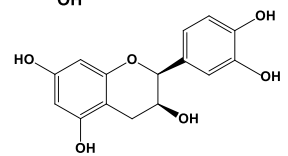
Figura 21 - Cromatograma do EEAA (4 mg mL<sup>-1</sup>) (A). Picos: 1 – Quercetina, 2 – Catequina, 3 – Ácido vanílico, 4 – Ácido cafeíco e 5 – Epicatequina, detectados a 254 nm.



Fonte: AUTORA, 2019.

Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com alguns estudos encontrados na literatura. De Freitas et al., (2017), demonstraram a presença de catequina em extrato seco do coco anão amarelo. Resultados semelhantes também podem ser observados em outros estudos. Esquenazi e colaboradores (2002), e Silva e colaboradores (2013), por meio da técnica de CLAE avaliação das frações acetato de etila da fibra de *Cocos nucifera* também demonstraram a presença de catequina e epicatequina, dentre outros compostos. Lima e colaboradores (2016), relataram a presença de catequina em extrato do coco. Do mesmo modo, Valadez Carmona e colaboradores (2016), demonstraram a presença de catequina e epicatequina, em extrato de coco. Já, em trabalhos de Dey e colaboradores (2005), assim como em nosso trabalho, a presença de ácido vanílico também foi relatada em extrato do *Cocos nucifera*.

**Tabela 19 - Padrões fenólicos, estruturas e tempos de retenção ( $R_t$ /min) presentes no EEAA.**

Picos	Compostos fenólicos	Estruturas	$R_t$ /min
1	Quercetina		4,026
2	Catequina		24,295
3	Ácido vanílico		26,592
4	Ácido caféico		30,650
5	Epicatequina		36,339

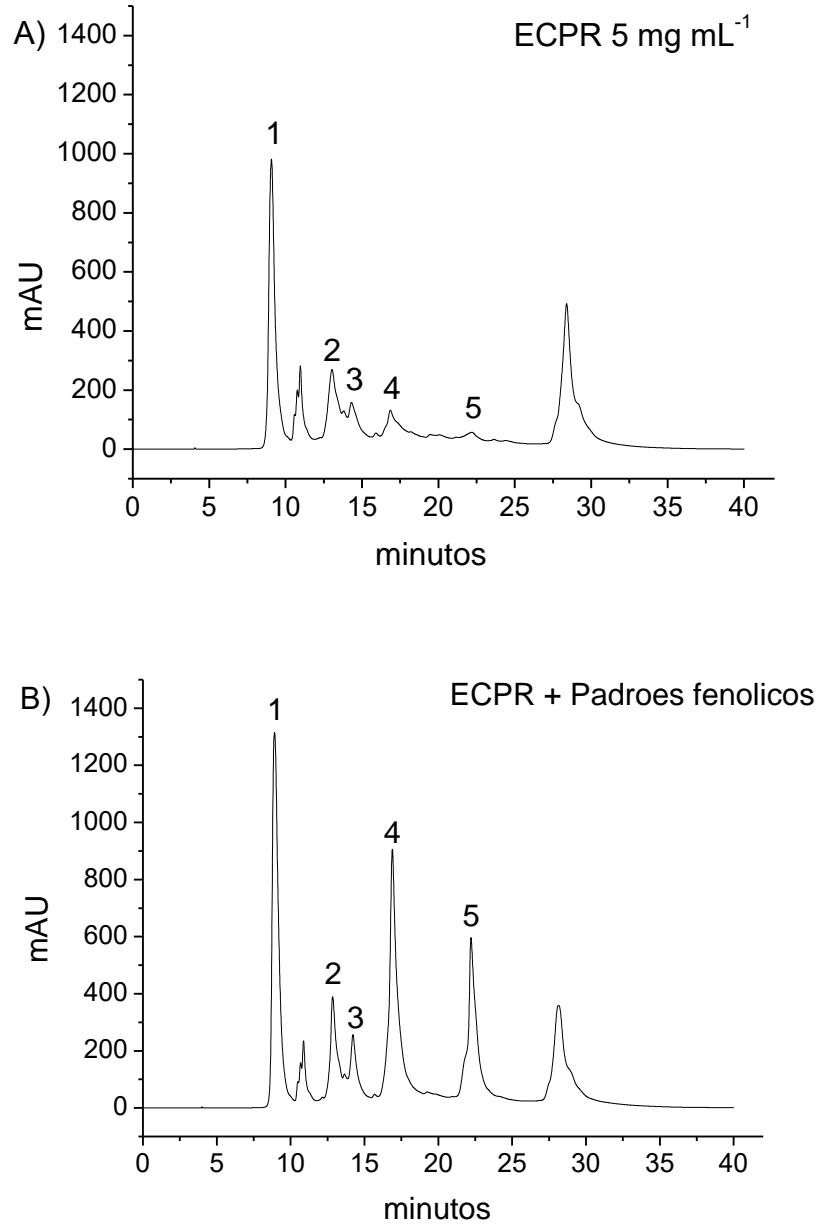
Fonte: AUTORA, 2019.

As Figuras 22 e 23 apresentam os cromatogramas obtidos para os extratos ECPR e EFPR.

De acordo com os cromatogramas apresentados na Figura 22, no extrato ECPR foi possível verificar a presença de fenóis como ácidos gálico e *p*-cumárico, catequina, epicatequina e resveratrol. Os compostos foram identificados nos extratos, a partir da comparação dos tempos de retenção (Tabela 20), e pela co-injeção dos padrões fenólicos (Figura 22 (B)).

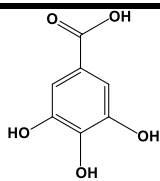
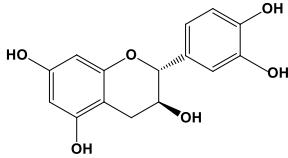
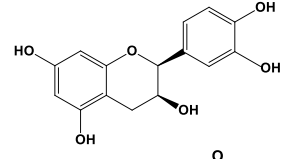
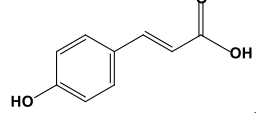
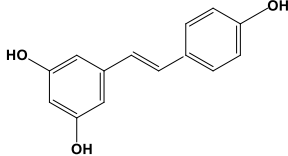


Figura 22 - Cromatograma do ECPR ( $5 \text{ mg mL}^{-1}$ ) (A) e co-injeção dos padrões fenólicos ( $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ ) (B). Picos: 1 – Ácido gálico, 2 – Catequina, 3 – Epicatequina, 4 – Ácido *p*-cumárico e 5 – Resveratrol, detectados a 280 nm.



Fonte: AUTORA, 2019.

**Tabela - 20 Padrões fenólicos, estruturas e tempos de retenção ( $R_t$ /min) presentes no ECPR e EFPR.**

Picos	Compostos fenólicos	Estruturas	$R_t$ /min
1	Ácido gálico		9,026
2	Catequina		12,91
3	Epicatequina		14,34
4	Ácido <i>p</i> -cumárico		16,99
5	Resveratrol		22,19

Fonte: AUTORA, 2019.

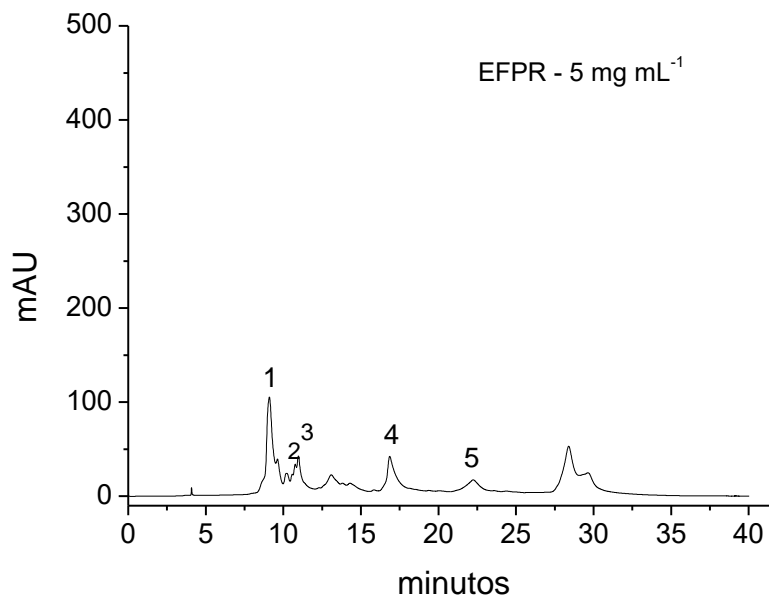
A Figura 23 apresenta o cromatograma obtido para o EFPR. Assim como no ECPR, os compostos fenólicos ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido *p*-cumárico e resveratrol também foram detectados (Tabela 20). No entanto, esses compostos se apresentaram em intensidades menores nas mesmas condições analíticas, corroborando com os resultados encontrados para o conteúdo de fenóis totais.

Para o nosso conhecimento até o presente momento, os nossos estudos relatam pela primeira vez, a presença do composto resveratrol em extratos de pimenta rosa.

Alguns estudos encontrados na literatura relataram a presença de compostos fenólicos, em extratos das cascas e polpa dos frutos. Por exemplo, Omena e colaboradores (2012), identificaram o flavonóide quercetina, em extratos metanólicos obtidos a partir das cascas e das polpas das espécies de *Genipa amaricana* L. e

*Spondia purpúrea* L., assim como no presente trabalho, a maior intensidade desse composto fenólico foi encontrada nas cascas.

**Figura 23 - Cromatograma do EFPR (5 mg mL<sup>-1</sup>) (A) Picos: 1 – Ácido gálico, 2 – Catequina, 3 – Epicatequina, 4 – Ácido *p*-Cumárico e 5 – Resveratrol, detectados a 280 nm.**



Fonte: AUTORA, 2019.

É conhecido na literatura que os compostos identificados nos extratos de pimenta rosa possuem diversas propriedades biológicas tais como, antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória (DEGASPARI et al., 2005). Além disso, esses compostos também apresentam características fotoprotetoras podendo atuar como ingredientes ativos em formulações protetoras (POLONINI et al., 2013; STEVANATO et al., 2014; BULLA et al., 2015; ALENCAR-FILHO et al., 2016).

Outros estudos também relataram a presença de compostos fenólicos em extratos de pimenta rosa, utilizando a técnica de CLAE. Glória e colaboradores (2017), identificaram os compostos ácido gálico e naringenina na fração acetato de etila, obtida a partir dos frutos desta espécie. Já os trabalhos de Bernardes e colaboradores (2014), mostraram a presença do composto apigenina, no extrato da casca dos frutos de pimenta rosa. Tlili e colaboradores (2018) relataram a presença dos compostos ácidos gálico, vanílico e cumárico, catequina, epicatequina, rutina, luteolina e kaempferol nos extratos dos frutos de *S. terebinthifolius* e *S. molle*.

## 5.5 Avaliação da capacidade antiglicante

### 5.5.1 Sistemas BSA-Glicose/Frutose, BSA-MG e Colágeno-Glicose/Frutose

Extratos e compostos naturais com elevada atividade antioxidante têm atraído muita atenção de pesquisadores, como exemplo, extratos de frutas e compostos fenólicos como a quercetina, a rutina, entre outros, por também demonstrarem eficiência na inibição da glicação avançada (LI et al., 2014; CHINCHANSURE et al., 2015).

Desta forma, a atividade antiglicante *in vitro* foi avaliada para os extratos etanólicos EEAA, ECPR e EFPR, utilizando BSA e colágeno.

Há fortes evidências de que o processo de envelhecimento precoce da pele pode ser ocasionado por estresse oxidativo, a exposição crônica aos raios UV e o processo de glicação proteica. No processo de glicação das proteínas, os AGEs são acumulados e causam modificações estruturais em proteínas (BAYLE et al, 1998; SIMM et al., 2014; KRUTMANN et al., 2017; PENG et al., 2011; BARBOSA et al., 2016).

Para tal, a determinação da capacidade antiglicante dos extratos, foi avaliada por dois sistemas diferentes, o primeiro envolvendo o estágio inicial de glicação de proteína induzida por glicose/frutose. O segundo sistema avaliou o estágio intermediário de glicação de proteínas, induzido por metilglioxal (MG).

Os extratos apresentaram resultados diferentes de acordo com os sistemas utilizados. O EEAA apresentou potencial inibidor em todos os sistemas utilizados (Tabela 21).

**Tabela 21 - Efeitos de inibição do EEAA e aminoguanidina sobre a formação dos AGEs, induzida por Glicose/Frutose e metilglioxal.**

Tratamento	Induzido		
	BSA - Glicose/Frutose IC <sub>50</sub> (µg/mL)	BSA - Metilglioxal IC <sub>30</sub> (µg/mL)	Colágeno- Glicose/Frutose IC <sub>50</sub> (µg/mL)
EEAA	9,61	34,76	4,5
Aminoguanidina	18,3	13,19	82,87

EEAA = extrato etanólico anão amarelo

Fonte: AUTORA, 2019.

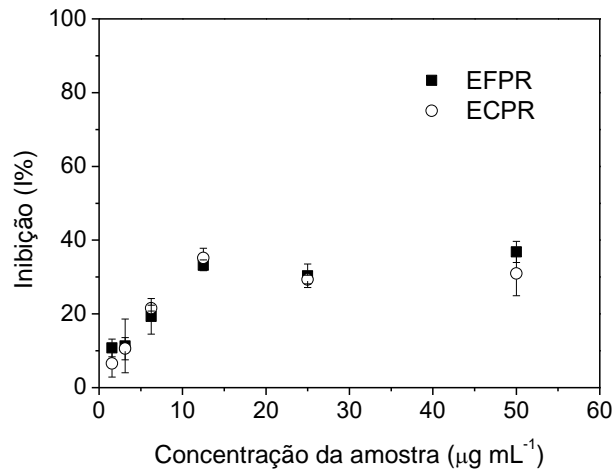
Conforme mostrado na Tabela 21, para o sistema BSA-Glicose/Frutose, verificou-se que o EEAA apresentou maior atividade inibitória, com  $IC_{50}$  no valor de  $9,61 \mu\text{g mL}^{-1}$ , quando comparado com  $IC_{50}$  no valor de  $18,3 \mu\text{g mL}^{-1}$ , obtido para aminoguanidina, que é um padrão com ação antiglicante já conhecido na literatura (THORNALLEY et al., 2003). O mesmo foi observado para o sistema Colágeno-Glicose/Frutose, onde o EEAA apresentou um valor de  $IC_{50}$  de  $4,5 \mu\text{g mL}^{-1}$  e a aminoguanidina com  $82,87 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Entretanto, para o sistema BSA-MG, o EEAA não atingiu 50% de inibição na concentração estudada. Nesse caso, foi calculado o valor de  $IC_{30}$  que foi  $34,76 \mu\text{g mL}^{-1}$  para o EEAA, e de  $13,19 \mu\text{g mL}^{-1}$  para a aminoguanidina. Assim, o extrato teve a maior capacidade de inibir a formação dos AGEs no estágio inicial, enquanto na inibição do produto intermediário de glicação, os resultados não foram satisfatórios.

PARENGKUAN e colaboradores (2013), avaliaram a atividade antiglicante de polpa e da água de *Cocos nucifera*, por meio dos modelos de glicação HSA-Glicose e Colágeno-Glicose. Os autores encontraram valores de  $IC_{50}$  1466 e  $181 \mu\text{g mL}^{-1}$ , para polpa, respectivamente, e 4093 e  $218 \mu\text{g mL}^{-1}$  para água de coco.

Alguns estudos avaliaram a ação de outras partes de *Cocos nucifera* no controle do processo de glicação, auxiliando no tratamento do *diabetes mellitus* (SINDURANI et al., 2000). Os autores mostraram que a inclusão da fibra do fruto do coco na dieta de ratos albinos apresentou efeitos promissores em sua ação hipoglicêmica. Tyagi e colaboradores (2015) relataram que os extratos aquosos e etanólico do endocarpo de *Cocos nucifera* apresentaram potencial antidiabético em ratos Wister diabéticos induzidos por estreptozotocina. Os autores ressaltaram que dentre os extratos, o extrato etanólico de *Cocos nucifera* apresentou o maior potencial antidiabético.

Em relação aos resultados das amostras ECPR e EFPR, apresentaram os mesmos perfis de inibição da formação de AGEs no sistema BSA-Glicose/Frutose (Figura 24), com percentuais de inibição variável entre 30-40% nas concentrações estudadas. Nos outros sistemas ambos os extratos não apresentaram atividade antiglicante.

**Figura 24- Porcentagem de inibição da formação de AGEs, no sistema BSA-Glicose/Frutose pelas amostras ECPR e EFPR.**



Fonte: AUTORA, 2019.

Em nossos estudos, os extratos obtidos das cascas e dos frutos de *Schinus terebinthifolius* não demonstraram resultados satisfatórios na inibição de AGEs. Entretanto, outras partes desta espécie foram avaliadas. Rocha e colaboradores (2019), avaliaram a propriedade antidiabética dos extratos metanólicos preparados a partir das raízes, das cascas do caule e das folhas, por meio da inibição da atividade da enzima digestiva  $\alpha$ -glucosidase e antiglicante por meio do modelo BSA/Frutose e BSA/Glioxal. Os autores relataram que o extrato das folhas apresentou o maior potencial de inibição com valores de IC<sub>50</sub> 16,13; 1,29 e 32,40  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para os ensaios  $\alpha$ -glucosidase, BSA/Frutose e BSA/Glioxal, respectivamente.

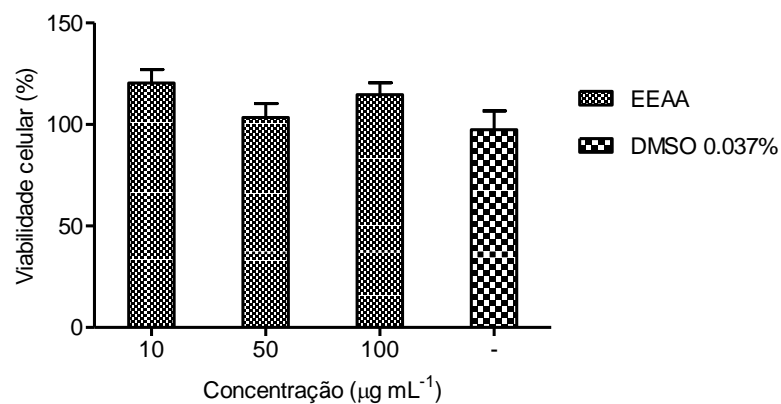
Diante dos resultados, dos extratos estudados, o EEAA foi o que demonstrou uma maior eficiência na inibição da formação de AGEs no sistema de glicação, o que o torna um forte candidato a ser usado como fonte natural no combate do envelhecimento precoce e no tratamento de doenças degenerativas, porém estudos adicionais torna-se necessários para a identificação do mecanismo de ação, bem como a resposta *in vivo* em modelos adequados antes de uma possível aplicação farmacológica. Já os extratos ECPR e EFPR não apresentaram bons resultados em inibir a formação de AGEs, deste modo, estudos adicionais estão sendo realizados com os compostos fenólicos encontrados na composição dos extratos de pimenta, a fim de verificar uma possível explicação para tal desempenho.

## 5.6 Ensaio de viabilidade celular

A citotoxicidade é um fator de grande relevância na avaliação da segurança e eficácia dos produtos desenvolvidos. Assim, foi realizado o ensaio utilizando o método de MTT frente a linhagem de macrófagos J774 e linha de celular HTR-8SV/neofroblasto para avaliar a possível citotoxicidade dos extratos EEAA, ECPR e EFPR, respectivamente.

As Figuras 25, 26 e 27, apresentam o efeito do EEAA na viabilidade de linhagem de macrófagos J774, e o efeito do ECPR e EFPR na viabilidade celular da linhagem HTR/\*SV e de explantes de placenta utilizando o método de MTT.

**Figura 25 - Efeito do extrato de coco etanólico anão amarelo (EEAA) na viabilidade de linhagem de macrófagos J774 usando o método de MTT. As células foram tratadas com EEAA (10, 50 ou 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e expostas por 24 h. Os dados foram expressos como % de viabilidade celular e representados como média  $\pm$  desvio-padrão. O controle negativo foi o solvente usado para dissolver o extrato.**



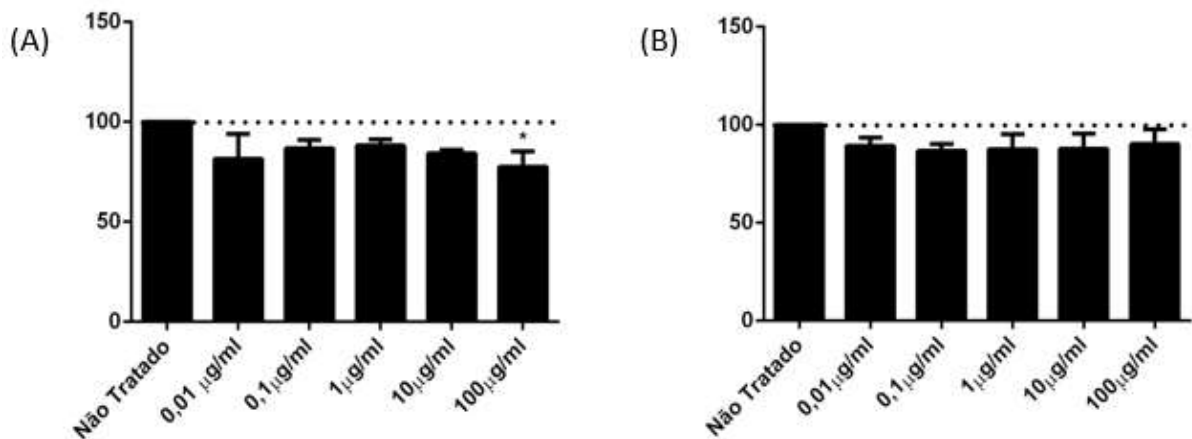
Fonte: AUTORA, 2019.

A viabilidade celular na presença do EEAA em macrófagos murinos, células protetoras do sistema imunológico, por 24 h foi medida por meio do teste MTT. Na Figura 25 é possível observar que o tratamento das células com o extrato não diminuiu a viabilidade celular e não exerceu efeito citotóxico.

Estudos com outras partes de *Cocos nucifera* Linn. também não apresentaram efeito citotóxico. Figueira e colaboradores (2016) relataram que os extratos das folhas de *Cocos nucifera* não apresentaram citotoxicidade, nas concentrações de 100 e 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  contra a células de linhagem J774 durante 48 h.

Na figura 26 (A) foi possível observar que o ECPR reduziu ligeiramente a viabilidade celular apenas nas concentrações 0,01 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  com valores de 83,72 e 83,4% ( $p < 0,05$ ), respectivamente, quando comparado ao grupo controle que foi cultivado apenas com DMEM/F12. Enquanto, nas concentrações 0,1 e 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  a viabilidade celular não foi alterada. Já o extrato EFPR (Figura 26 (B)) não apresentou alteração na viabilidade celular em nenhuma das concentrações testadas.

**Figura 26 - Efeito dos extratos de pimenta rosa na viabilidade de células HTR-8SV / neo sob diferentes concentrações. As células foram tratadas com solução DMEM / F12 (Controle) e com (0,01, 0,1, 1, 10 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de ECPR (A) e EFPR (B). Os dados foram expressos como % de viabilidade celular e representados como média  $\pm$  desvio-padrão, com  $n=3$ , em triplicata. ( $p < 0,05$ )**

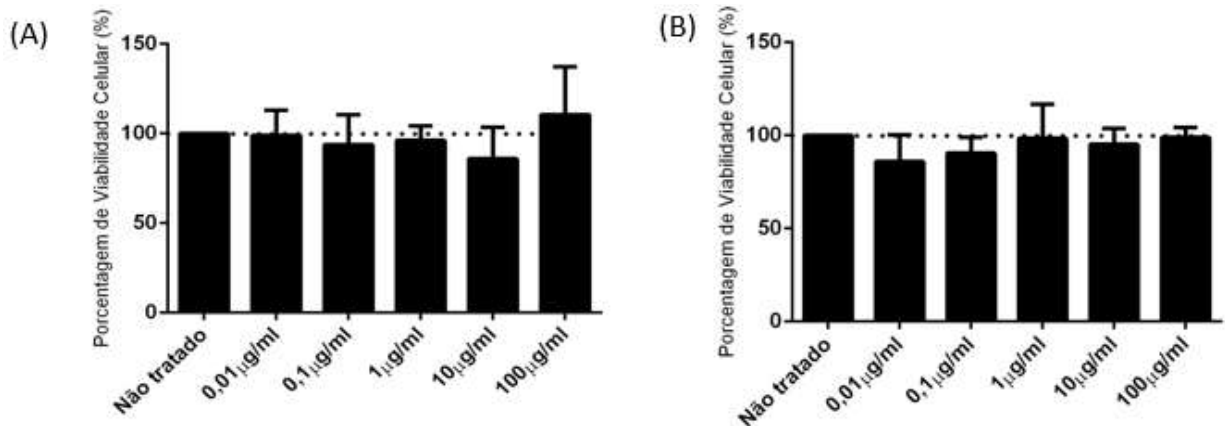


Fonte: AUTORA, 2019.

O efeito dos extratos ECPR e EFPR sobre a viabilidade da cultura de explantes do tecido placentário também foi avaliado. Na Figura 27 foi possível verificar que ambos os extratos não demonstraram alterações na viabilidade celular e não exerceu efeito citotóxico para a placenta nas concentrações analisadas.



**Figura 27 - Efeito dos extratos de pimenta rosa na viabilidade dos explantes dos tecidos placentários sob diferentes concentrações. As células foram tratadas com solução DMEM / F12 (Controle) e com (0,01, 0,1, 1, 10 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de ECPR (A) e EFPR (B). Os dados foram expressos como % de viabilidade celular e representados como média  $\pm$  desvio-padrão, com n=3, em triplicata. ( $p < 0,05$ )**



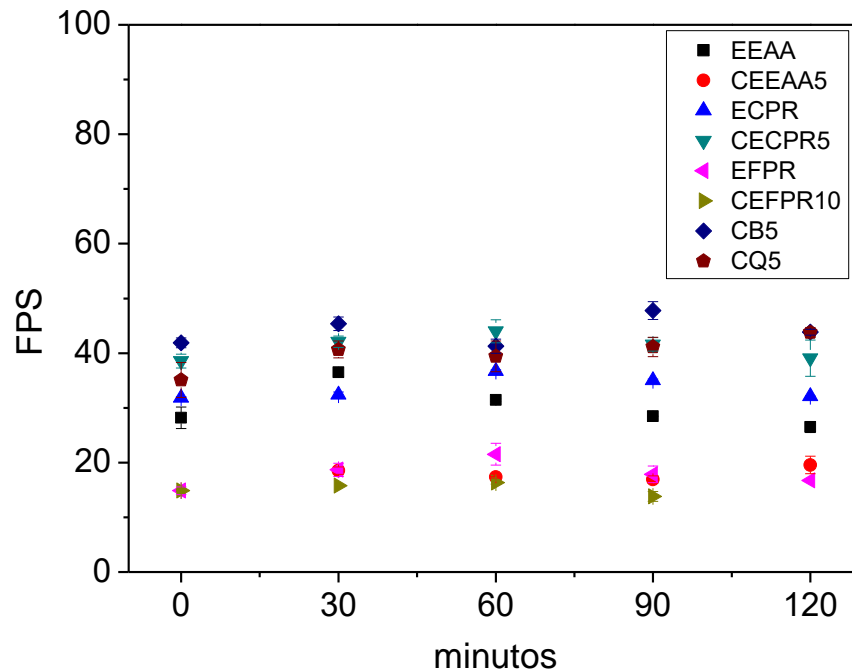
Fonte: AUTORA, 2019.

## 5.7 Fotoestabilidade

### 5.7.1 Avaliação do FPS das amostras irradiadas por lâmpadas UVA-UVB

O estudo de fotoestabilidade dos extratos (EEAA, ECPR e EFPR) e formulações (CEEA5, CECPR5, CEFPR10, CB5 e CQ5), selecionadas por apresentarem os melhores desempenhos na avaliação de FPS, foi realizado utilizando a técnica de espectrofotometria no UV. De acordo com os resultados apresentados na Figura 28, observou-se que os valores de FPS das amostras permaneceram constantes após a irradiação por um período de 120 minutos, assim apresentando fotoestabilidade. Os extratos e suas formulações se apresentaram estáveis de maneira semelhante aos padrões benzofenona-3 e quercetina. Benzofenona-3 é um filtro comercial bastante utilizado em formulações cosméticas, apresenta amplo espectro de absorção e fotoestabilidade. Kockler e colaboradores (2012) avaliaram a fotoestabilidade da benzofenona-3 incorporada a uma emulsão, sob a exposição de luz UV em um tempo de quatro horas, e verificaram que a formulação se apresentou fotoestável, com apenas 3% de perda do fator de proteção após duas horas de exposição.

**Figura 28 - Fator de proteção solar dos extratos e formulações: EEAA, Creme + EEAA 5 % (m/m) (CEEAA5), ECPR, Creme + ECPR 5% (m/m) (CECPR5), EFPR, Creme + EFPR 10% (m/m) (CEFPR5), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5), Creme + quercetina a 5% (CQ5) a (5 mg mL<sup>-1</sup>) obtidos em função do tempo de radiação UV.**



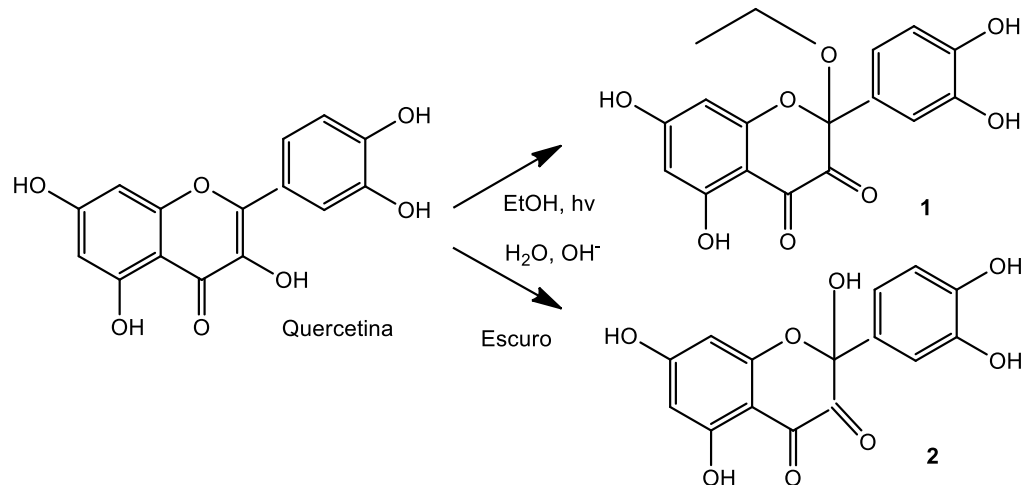
Fonte: AUTORA, 2019.

Atualmente a fotoestabilidade é uma das preocupações em utilizar alguns filtros solares disponíveis. A instabilidade desses filtros mediante a exposição aos raios UV, pode ocasionar a diminuição da sua eficácia, além de existir a possibilidade da formação de produtos tóxicos no tecido cutâneo (NASCIMENTO et al., 2014).

Dall'Acqua e colaboradores (2012), avaliaram a fotoestabilidade da quercetina em soluções alcoólicas. A degradação da quercetina foi induzida por meio da exposição à radiação UVA e UVB, e foi observado a formação de um produto resultante da oxidação e da adição de uma molécula de álcool à ligação dupla 2,3. O mesmo mecanismo foi observado após a quercetina ser dissolvida em soluções alcalinas, obtendo-se um segundo produto devido à oxidação e a adição da água (Figura 29). Após comparação com análogos da quercetina, os autores confirmaram que apesar da presença de cinco grupos hidroxil, aqueles nas posições 3, 3' e 4' são os principais envolvidos na atividade antioxidante exercida pelos compostos, bem como em sua fotolabilidade. Assim, como é do nosso conhecimento a quercetina é

um dos compostos constituintes do EEAA. Possivelmente, parte da ação fotoprotetora e fotoestabilidade exercida pelo extrato e sua formulação pode estar correlacionado com presença desse composto em sua composição.

**Figura 29 - Proposta das estruturas dos produtos de quercetina obtidos por irradiação UV em etanol (1) ou em amônia aquosa no escuro (2).**



Fonte: Adaptado de DALL'ACQUA et al., 2012.

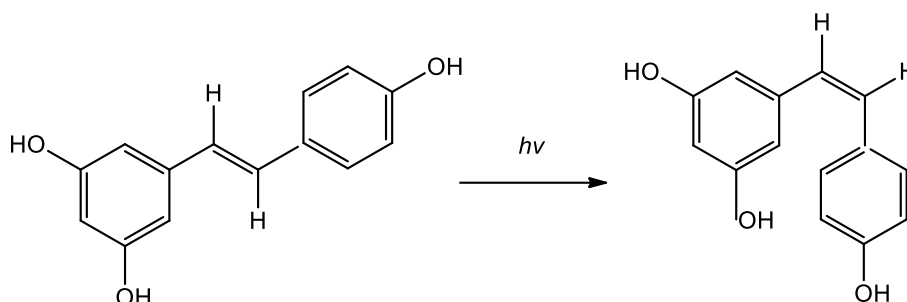
A fotoestabilidade da quercetina em solução, também foi avaliada por Fahlman (2010). Uma solução metanólica de quercetina foi preparada e alíquotas foram submetidas a exposição das radiações UVA e UVB, com análises a cada 60 min por um tempo de 11 horas realizadas por meio da técnica de HPLC. A exposição à radiação UV resultou na diminuição (< 17%) de quercetina, na conversão para três fotoprodutos identificados como 2,4,6-trihydroxybenzaldeído, depside quercetina e hidroxitirosol. Ainda neste trabalho, os autores avaliaram a capacidade da quercetina em inibir o processo de fotossensitização do citoprofeno (fármaco anti-inflamatório atua no tratamento de processos reumáticos). A quercetina demonstrou ser eficaz na prevenção da decomposição do citoprofeno, onde, após duas horas em exposição aos raios UVB, toda a quercetina foi consumida para a formação dos três fotoprodutos de quercetina, enquanto que o cetoprofeno sofreu uma diminuição menor que 10%. Os autores concluíram que a baixa concentração de formação e a natureza atóxica dos fotoprodutos, indicam que a fotoestabilidade da quercetina não é obstáculo ao

seu uso como fotoprotetor, e que este composto pode apresentar efeitos benéficos dentro do tempo estudado como filtro solar tópico.

Os extratos ECPR e EFPR, bem como suas formulações, também se apresentaram fotoestáveis após duas horas em exposição aos raios UV. Sabe-se que esses extratos apresentam compostos fenólicos em sua composição, dentre eles, o resveratrol cuja a presença foi determinada em nossos estudos. O resveratrol é um composto biologicamente ativo presentes nas plantas, e apresenta duas formas isoméricas *trans* e *cis*, sendo o isômero *trans* o mais estável. Alguns estudos indicam que este composto apresenta instabilidade à medida que se converte no isômero *cis* (forma menos ativa), principalmente após a exposição à radiação UV. Em trabalhos de Juskaité e colaboradores (2017), o efeito da radiação UVB na conversão do *trans*-resveratrol em *cis*-resveratrol (Figura 30) foi verificado. Este processo foi avaliado comparando a fotoestabilidade do resveratrol em uma solução da microemulsão contendo resveratrol e outra solução etanólica de resveratrol. As amostras foram submetidas à exposição aos raios UVB por um período de quatro horas. Os autores detectaram por HPLC a conversão mais acentuada de *trans* para *cis* após quatro horas de exposição.

Diante dos resultados foi possível verificar que o uso dos extratos em formulações fotoprotetoras pode ser eficaz (abaixo de 4h) na proteção contra os danos causados pelos raios UV, pois além de exercer ação fotoprotetora em comparação com filtros comerciais, os extratos se apresentaram fotoestáveis.

**Figura 30 - Estruturas químicas do *trans* e *cis*-resveratrol**



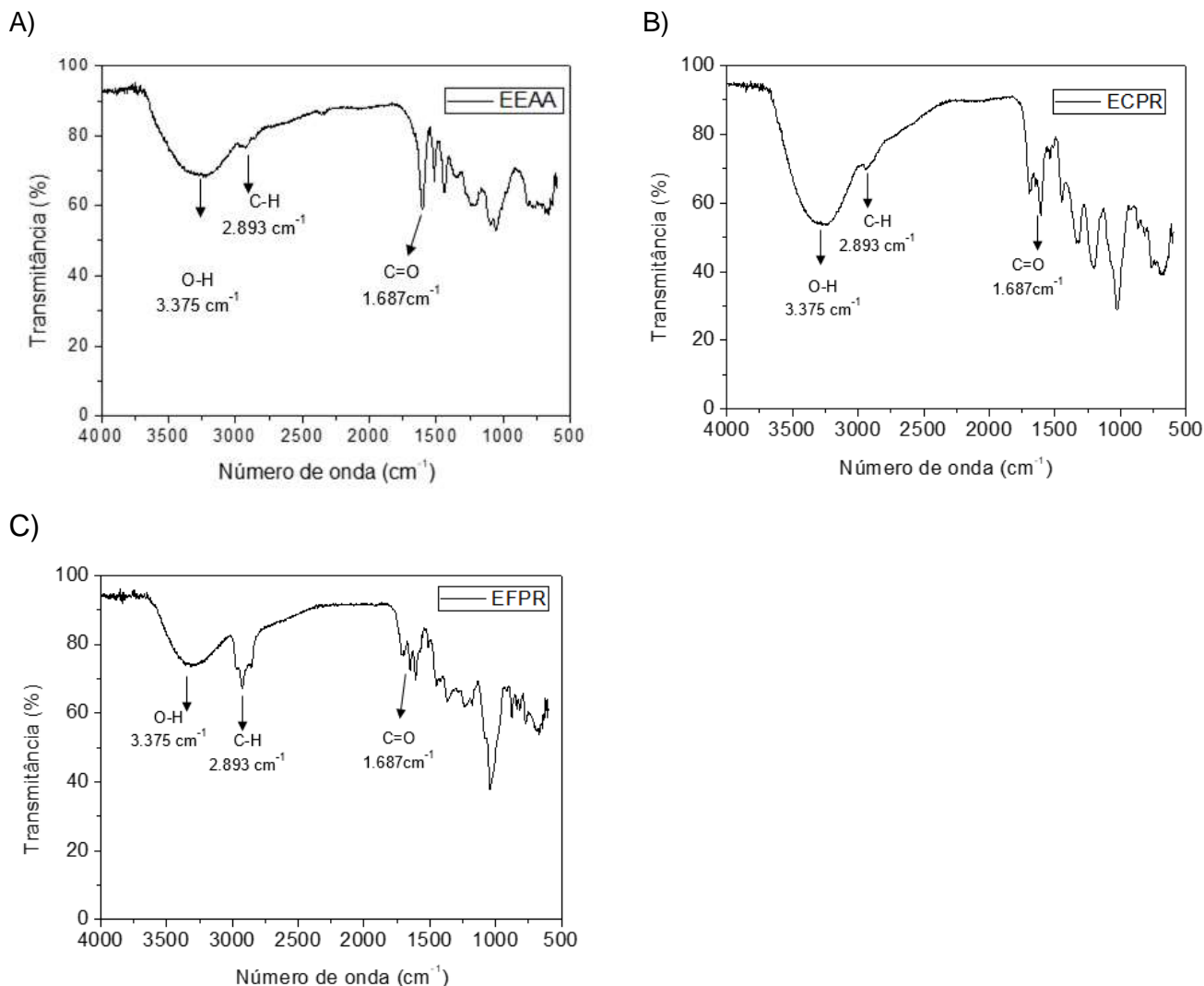
Fonte: Adaptado de GERSZON et al., 2014.

### 5.7.2 Espectrofotometria no FTIR - RTA

A análise espectroscópica no infravermelho (FTIR), permite obter informações a respeito da caracterização química dos grupos funcionais na estrutura orgânica, e tem sido bastante utilizada em estudos de estabilidade e fotoestabilidade de preparações cosméticas e farmacêuticas (MASMOUDI et al., 2005). Neste trabalho, os extratos (EEAA, ECPR e EFPR) e formulações (CEEEA5, CECPR5, CEFPR10, CB5 e CQ5), foram submetidos às análises de FTIR, com o intuito de se obter informações sobre possíveis mudanças estruturais das amostras quando estas foram expostas às radiações UVB - UVA.

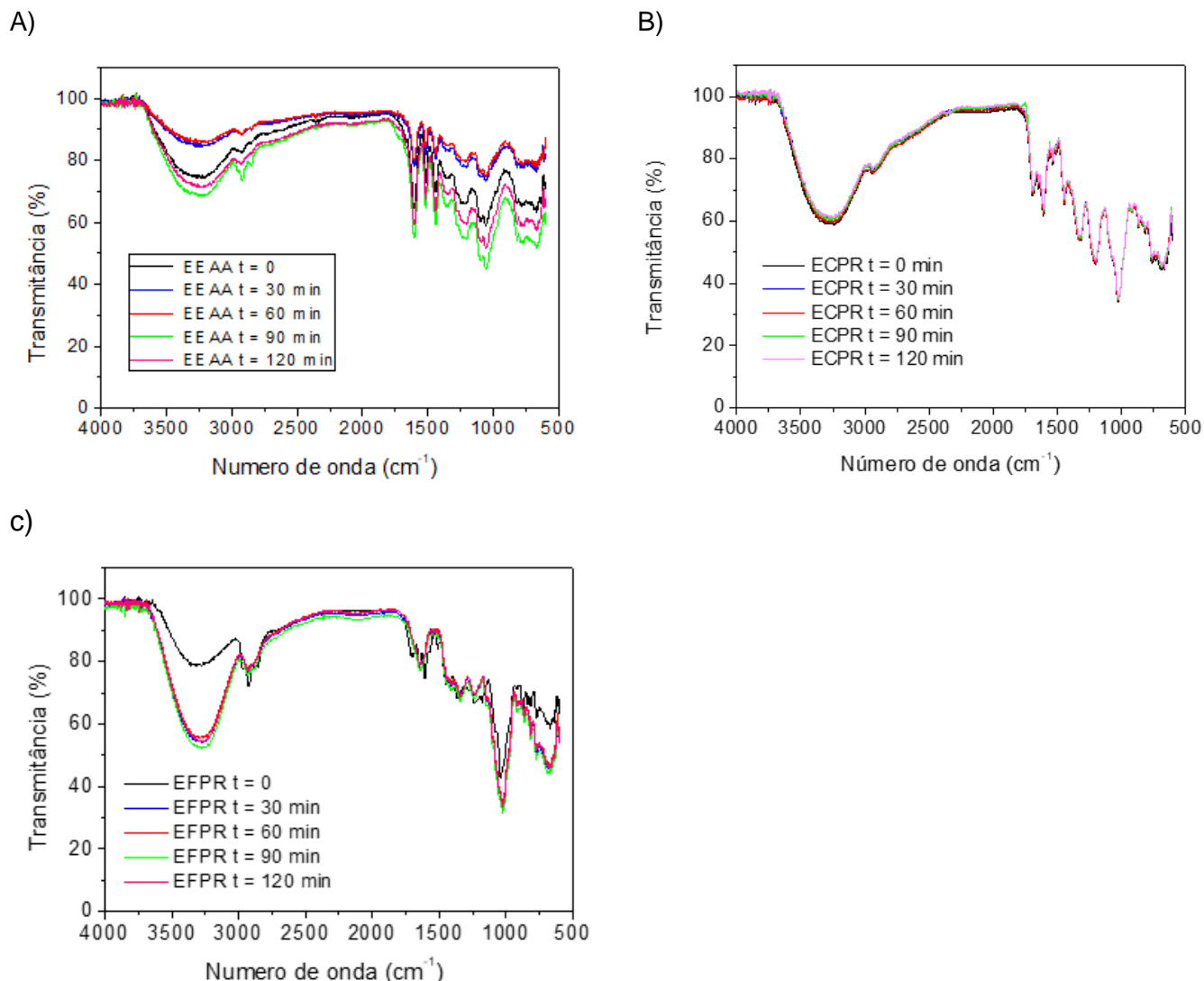
A Figuras 31 apresenta os espectros no FTIR do EEAA, ECPR e EFPR, respectivamente, antes da exposição à radiação UV. Em todos os extratos foram observadas a presença de uma banda larga em  $3.375\text{ cm}^{-1}$  relativo ao estiramento OH e uma banda em  $2.893\text{ cm}^{-1}$ , características dos grupos metil e metileno ocasionados pelo estiramento C-H. Também foi possível observar a presença de uma banda intensa em  $1.687\text{ cm}^{-1}$  relacionada deformação axial do grupo C=O, referentes aos grupos de carboxílicos característicos de hemicelulose e lignina. A banda presente em  $1.446\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao estiramento C=C de anel aromático. Tais resultados estão de acordo com estudos de Albinante e colaboradores (2012).

**Figura 31 - Espectros de FTIR para o EEAA (A), ECPR (B) e EFPR (C) antes da exposição à radiação UVB-UVA.**



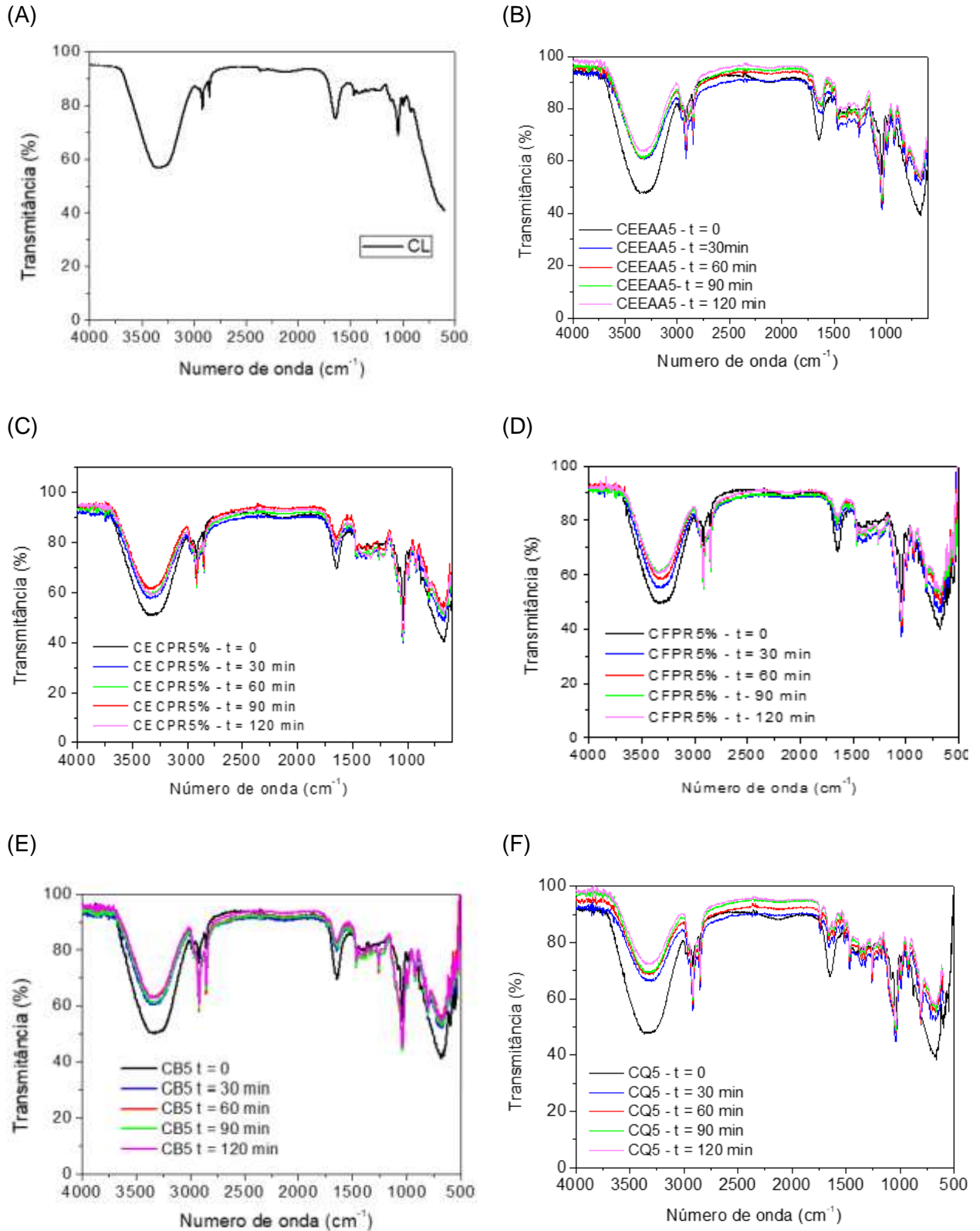
A Figura 32 corresponde os espectros no FTIT do EEAA, ECPR e EFPR, respectivamente, após a exposição da radiação UV nos tempos de 30, 60, 90 e 120 min. Diante dos resultados podemos observar que os espectros obtidos para o EEAA apresentou uma variação de intensidade na banda 3.375 cm<sup>-1</sup> relativo ao estiramento OH, o ECPR, não apresentaram alterações estruturais quanto a natureza dos constituintes. Já, no espectro de EFPR foi observado uma pequena mudança nas bandas em 2893 e 1687 cm<sup>-1</sup>, porém, tal mudança não alterou os valores de FPS determinados no estudo de fotoestabilidade (Fig. 26) realizados por meio de espectrofotometria UV-vis. De maneira geral, os extratos se apresentaram fotoestáveis.

Figura 32 - Espectros de FTIR para o EEAA (A), ECPR (B) e EFPR (C) após exposição à radiação UVB-UVA, nos tempos de 30, 60, 90 e 120 min.



Na Figura 33, pode-se observar os espectros do creme Lanette (CL) e das formulações CEEAA5, CECPR5, CEFPR10, CB5 e CQ5, respectivamente. Para o Creme Lanette foram observadas as bandas em 3.375 cm<sup>-1</sup> relativo ao estiramento OH, (C-H) em 2.893 cm<sup>-1</sup> e uma fraca banda (C=O) em 1.687 cm<sup>-1</sup>. Observando todos os espectros nota-se que o perfil característico do creme Lanette fica evidente. Para as formulações contendo os extratos e padrões não foram observadas modificações no perfil das bandas de absorção após a exposição aos raios UV, no entanto, a banda relativa ao estiramento OH apresentou uma diminuição em sua intensidade, isto pode indicar uma possível desidratação do creme Lanette. Entretanto, não ocorreram alterações nos valores de FPS (Fig. 26)

Figura 33 - Espectros de FTIR para o creme Lanette (CL) (A) e as formulações CEEAA5 (B), CECPR5 (C) e CEFPR10 (D), CB5 (E) e CQ5 (F). após exposição à radiação UVB-UVA, nos tempos de 30, 60, 90 e 120 min.





## 5.8 Estudo da estabilidade das formulações fotoprotetoras

O estudo de estabilidade de formulações cosméticas são essenciais para o estabelecimento de critérios em relação ao controle de qualidade, segurança, confiabilidade e eficácia. Deste modo, estes estudos visam fornecer dados que contribuem para o desenvolvimento e melhoria do produto, prevendo a sua estabilidade, tempo de vida estimada e auxiliar no monitoramento das características organolépticas, físico-química e microbiológica (ANVISA, 2004).

As formulações CEEA5, CECPR5, CEFPR10, CB5 e CQ5 selecionadas por apresentarem os melhores desempenhos na avaliação de FPS foram submetidas ao estudo de estabilidade realizado de acordo com o guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da ANVISA (BRASIL, 2004).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 18, todas as formulações preparadas com extratos e padrões se apresentaram estáveis em relação ao aspecto visual, com a manutenção do aspecto homogêneo durante todo o período de armazenamento. Em relação a estabilidade da cor e odor, cada formulação apresentou coloração e cheiro de acordo com as características do extrato e padrão incorporado à creme base. O EEAA caracteriza-se por ser um extrato de coloração marrom e odor característico da fruta. A formulação CEEAA5 não apresentou alterações na coloração marrom e odor característico, mantendo-se estável durante todo o período de estudo. Os extratos de ECPR e EFPR caracterizam-se pela coloração rosa, sendo que no extrato ECPR essa coloração se apresenta de maneira mais intensa. No estudo de estabilidade de cor e odor, verificou-se que a formulação CECPR5 apresentou alteração em sua coloração, de rosa para uma tonalidade alaranjada sendo perceptível a partir de 60 dias, permanecendo até o tempo final do estudo de estabilidade. A formulação CEFPR10 se demonstrou estável ao longo do estudo. A formulação CB5 apresentou características do filtro comercial benzofenona-3, que possui uma coloração levemente amarelada e odor característico do fotoprotetor. Do mesmo modo, a formulação preparada com o padrão fenólico quercetina CQ5, apresentou uma coloração amarela intensa e odor característico do padrão. Ambas as formulações se apresentaram estáveis, com coloração e odor mantidos até o período final de análise.

Segundo Flor e colaboradores (2007), as emulsões constituem de longe o melhor veículo para a preparação de filtro solares, ela deve ser apresentar de forma













homogênea e estável. De modo geral, as formulações preparadas com extratos e padrões do presente trabalho demonstraram ser estáveis em relação aos parâmetros organolépticos avaliados durante o período de armazenamento. Exceto, a formulação preparada com o ECPR que apresentou uma leve alteração na coloração no decorrer do tempo de análise.


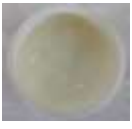






De acordo com Pianovski e colaboradores (2008), diversos fatores podem comprometer a estabilidade físico-química e microbiológica das formulações, como por exemplo: constituintes incompatíveis, temperatura, ambiente de estocagem, contaminação por microrganismos e reações de oxidação.

Lange e colaboradores (2009), avaliaram a instabilidade de formulações preparadas com o composto fenólico resveratrol na forma de extrato seco a 2%, em comparação com a formulação preparada com o antioxidante sintético BHT durante o período de 60 dias. Os autores observaram que ambas as formulações permaneceram inalteradas (aspecto, cor e odor) a uma temperatura ambiente ao longo do estudo. Entretanto, quando as formulações foram submetidas a um aumento de temperatura, a formulação com o extrato apresentou instabilidade com separação de fase e odor alterado após 15 dias armazenada a 45°C, enquanto que a formulação com BHT permaneceu estável por 45 dias. Segundo os autores, a instabilidade das formulações pode ser devida a reações provocadas pelo aumento de calor.

Em relação a determinação do pH de uma formulação, este deve garantir a estabilidade dos ingredientes da formulação, sua eficácia e segurança (ANVISA, 2004). De acordo com os resultados descritos na Tabela 18, as formulações apresentaram faixa de pH entre 5,32 e 6,91, não foram observadas alterações significativas entre as formulações ao longo do tempo de análise.

Tabela 23 - Características organolépticas e físico-química das formulações analisadas no estudo de estabilidade.

Formulações	Análises	Tempo (dias) (25 ± 2°C)			
		t <sub>0</sub>	t <sub>30</sub>	t <sub>60</sub>	t <sub>90</sub>
CEEAA5	Aspecto				
	Características organolépticas	Homogênea, de coloração marrom, odor característico da fibra de coco.	Homogênea, de coloração marrom, odor característico da fibra de coco.	Homogênea, de coloração marrom, odor característico da fibra de coco.	Homogênea, de coloração marrom, odor característico da fibra de coco.
	pH	5,75 ± 0,36	5,71 ± 0,45	5,59 ± 0,56	5,72 ± 0,42
CECPR5	Aspecto				
	Características organolépticas	Homogênea, de coloração rosa, odor característico do fruto	Homogênea, de coloração rosa, odor característico do fruto	Homogênea, de coloração alaranjada, odor característico do fruto	Homogênea, de coloração alaranjada, odor característico do fruto.
	pH	5,67 ± 0,55	5,53 ± 0,62	5,35 ± 0,42	5,32, ± 0,43
CEFPR10	Aspecto				
	Características organolépticas	Creme homogêneo, de coloração rosa claro, odor característico do fruto	Creme homogêneo, de coloração rosa claro, odor característico do fruto	Creme homogêneo, de coloração rosa claro, odor característico do fruto	Creme homogêneo, de coloração rosa claro, odor característico do fruto
	pH	5,75 ± 0,36	5,65 ± 0,38	5,61 ± 0,42	5,64, ± 0,39

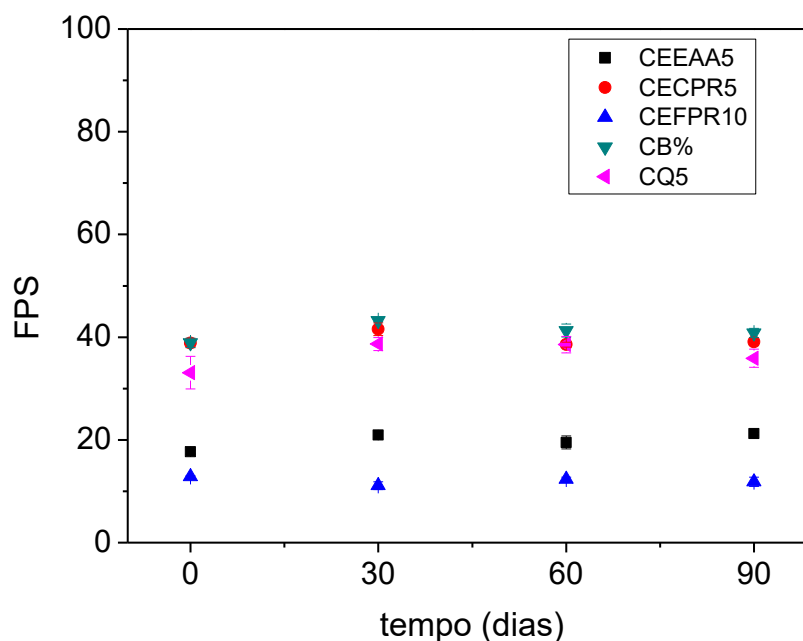
Formulações	Análises	Tempo (dias) (25 ± 2°C)			
		t <sub>0</sub>	t <sub>30</sub>	t <sub>60</sub>	t <sub>90</sub>
CB5	Aspecto				
	Características organolépticas	Creme homogêneo, de coloração amarelo claro, odor característico da base	Creme homogêneo, de coloração amarelo claro, odor característico da base	Creme homogêneo, de coloração amarelo claro, odor característico da base	Creme homogêneo, de coloração amarelo claro, odor característico da base
	pH	6,98 ± 0,05	6,75 ± 0,08	6,91 ± 0,06	6,78 ± 0,06
CQ5	Aspecto				
	Características organolépticas	Creme homogêneo, de coloração amarela, odor característico do padrão fenólico	Creme homogêneo, de coloração amarela, odor característico do padrão fenólico	Creme homogêneo, de coloração amarela, odor característico do padrão fenólico	Creme homogêneo, de coloração amarela, odor característico do padrão fenólico
	pH	5,67 ± 0,55	5,53 ± 0,62	5,35 ± 0,42	5,32, ± 0,43

Fonte: AUTORA, 2019.

Após verificar a estabilidade físico-química, as formulações protetoras (extrato e padrões), também foram avaliadas com relação ao valor de FPS durante o período de armazenamento.

Com relação aos valores de FPS, a Figura 34 demonstra que os resultados obtidos para as formulações se apresentaram estáveis quando analisadas, indicando a manutenção da eficácia protetora no período de tempo de 90 dias. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre as amostras em análise.

Figura 34 - Fator de proteção solar das formulações submetidas ao estudo de estabilidade (90 dias): Creme + EEAA 5 % (m/m) (CEEAA5), Creme + ECPR 5% (m/m) (CECPR5), Creme + EFPR 10% (m/m) (CEFPR5), Creme + benzofenona-3 a 5% (CB5), Creme + quercetina a 5% (CQ5) a (5 mg mL<sup>-1</sup>).



Fonte: AUTORA, 2019.

De modo geral, os resultados apresentados no estudo de estabilidade normal, demonstraram que as formulações se apresentam estáveis em relação às suas características físico-químicas e funcional, com a manutenção do FPS. Entretanto, outros estudos adicionais se tornam necessário para uma completa avaliação de estabilidade das formulações fotoprotetoras.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação da capacidade antioxidante demonstrou que os extratos etanólicos obtidos a partir das fibras da casca do coco e das cascas de pimenta rosa foram os que mais se destacaram nos métodos utilizados. Já o extrato obtido a partir dos frutos de pimenta rosa não apresentou um bom desempenho.

A avaliação do potencial fotoprotetor demonstrou que os extratos e formulações apresentaram bons valores de fator de proteção solar, com destaque para os extratos do coco e das cascas da pimenta que apresentaram valores maiores que o exigido pela ANVISA na menor concentração testada, além disso demonstraram valores de FPS equivalentes ao padrão filtro comercial benzofenona-3, e padrão fenólico quercetina.

As análises de CLAE revelaram a presença dos compostos fenólicos, nos extratos das fibras de coco e de pimenta rosa. Com destaque para a presença do composto resveratrol descrito pela primeira vez.

A determinação da capacidade antiglicante demonstrou que o extrato do coco foi o mais eficiente em inibir a formação de AGEs, com atividade superior ao padrão aminoguanidina nos sistemas envolvendo o estágio inicial de glicação. Os extratos da pimenta rosa não demonstraram eficiência nos métodos analisados.

Os extratos estudados não demonstraram alterações na viabilidade celular e não exerceram efeito citotóxico.

No estudo de fotoestabilidade, as formulações se apresentaram fotoestáveis durante o período de duas horas.

As formulações com extratos e padrões exibiram estabilidade normal em relação aos parâmetros aspecto, cor, odor, pH e FPS ao longo do tempo de 90 dias

## CONCLUSÕES

Os extratos estudados têm potencial biotecnológico, com depósito de uma patente e a redação de uma próxima.

Os extratos são ingredientes ativos para a preparação de formulações fotoprotetoras. Contudo, estudos complementares são necessários, incluindo testes biológicos *in vivo*, a fim de garantir uma aplicação cosmética com qualidade, segurança e eficiência.

## PERSPECTIVAS

- ✓ Avaliação da fototoxicidade das formulações;
- ✓ Estudo de permeabilidade cutânea
- ✓ Caracterização funcional das formulações *in vivo*
- ✓ Avaliar a associação dos extratos e óxidos (filtros físicos)
- ✓ Determinar a constituição química dos extratos ( caracterizar / identificar os demais sinais / picos)

## REFERÊNCIAS

- ABID, A. R. et al. Photo-stability and photo-sensitizing characterization of selected sunscreens' ingredients. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 332, p. 241–250, 2017.
- ABOUL-ENEIN. A. M., et al.,. Identification of phenolic compounds from banana peel ( *Musa paradaisica* L .) as antioxidant and antimicrobial agents. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 4, p. 46–55, 2016.
- ADEBAYO, J.O; et al., Evaluation of the antiplasmodial and cytotoxicity potentials of husk fiber extracts from *Cocos nucifera* a medicinal plant used in Nigeria to treat human malaria, **Human and Experimental Toxicology**, v. 31, n. 3, p. 244-249, 2012.
- AFAQ, F. Natural agents: Cellular and molecular mechanisms of photoprotection. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 508, n. 2, p. 144–151, 2011.
- AFONSO, S. et al. Photodegradation of avobenzone: Stabilization effect of antioxidants. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 140, p. 36–40, 2014.
- AGATI, G. et al. Functional roles of flavonoids in photoprotection: New evidence, lessons from the past. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 72, p. 35–45, 2013.
- ALVES, E. P. B.; ASPECTOS, S. R. Aspectos gerais e abordagens terapêuticas da quercetina sobre as complicações do diabetes causadas pelo estresse oxidativo. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, v. 14, n. 2, p. 179–186, 2010.
- ALVIANO, W. S. et al. In vitro antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. **Archives of Oral Biology**, v. 53, n. 6, p. 545–552, 2008.
- ANURUKVORAKUN, O. The involmente of antioxidant and sun protection factors. **International academic conference proccedings**, p. 149–162, 2016.
- ANVISA. Brasil, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.



Resolução - Guia de Estabilidade de produtos cosméticos, 2006.

ANVISA. Brasil, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 47, de 16 de março de 2006. **Aprova o Regulamento técnico Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos para Produtos de Higiene Pessoais, Cosméticos e Perfumes**, 2006.

ANVISA. Brasil, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) Resolução RDC nº 30, de 01 de junho de 2012. **Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências**. 2012.

ANVISA. Brasil, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) Resolução RDC nº 07, de 11 de fevereiro de 2015. **Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências**. 2012.

AZEVEDO, C. F. ET AL. Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (*Shinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae). **Resv. Bras. PI Med., Campinas**, v. 17, n. Cim, p. 36–35, 2015.

BASANTA, M. F.; PLÁ, M. F. E; RAFFO, M. D; STORTZ, C. A; ROJAS, A. M. Isolated from harvest residues as valuable dietary fiber and functional food ingredients. **Journal of Food Engineering**, v. 126, p. 149-155, 2014.

BABBAR, N. et al. Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2568–2575, 2014.

BAILLO, P. V. . Nanotecnologia aplicada aos cosméticos nanotechnology applied to cosmetics. v. 93, n. 3, p. 45–54, 2012.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.

BALOGH, T. S.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M. Proteção à radiação ultravioleta : recursos disponíveis na. v. 1, p. 732–742, 2011.

BARBOSA, J. H. P. et al. Determination of advanced glycation (ages) and lipoxidation (ales) end products in foods and biological systems: advances, challenges and perspectives. **Química Nova**, v. 5, n. 39, p. 1–13, 2016.

BARBOSA, J. H. P.; OLIVEIRA, S. L.; SEARA, L. T. E. O papel dos produtos finais da glicação avançada (AGEs) no desencadeamento das complicações vasculares do diabetes. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 6, p. 940–950, 2008.

BARTOLOMEU, G. et al. Antimicrobial activity of *Phoma* sp . URM 7221 : An endophyte from *Schinus terebinthifolius* Raddi ( *Anacardiaceae* ). v. 11, n. 1, p. 1–7, 2017.

BERNARDES, N. R. et al. Atividade Antioxidante E Fenóis Totais De Frutas De Campos Dos Goytacazes Rj. **Perspectivas Online Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 53–59, 2011.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica , das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius raddi*)**. Universidade Federal de Viçosa, 2006.

BRASIL, A. N. DE V. S. Resolução - RDC no 30, de 1o de junho de 2012. Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores solares em Cosméticos e dá outras providências. p. 1–7, 2012.

BENZIE, I. E. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BULLA, M. K. et al. Evaluation of photoprotective potential and percutaneous penetration by photoacoustic spectroscopy of the *Schinus terebinthifolius* Raddi extract. **Photochemistry and Photobiology**, v. 91, n. 3, p. 558–566, 2015.

BUTSAT, S.; SIRIAMORNUN, S. Phenolic acids and antioxidant activities in husk of different Thai rice varieties. **Food Science Technological Internacional**, v. 16, n 4, p. 329–336. 2010.

CABRAL, A. et al. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. v. 115, p. 469–475, 2009.

CABRAL, L. D. S. ET AL. Filtros solares e fotoprotetores – uma revisão. **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 25, n. 2, p. 107–110, 2013.

CARVALHO, M. G. et al. Schinus terebinthifolius Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 15, n. 1, p. 158–169, 2013.

CASTRO, L. C. G. DE. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 55, n. 8, p. 566–575, 2011.

CEFALI, L. C. et al. Plant-based active photoprotectants for sunscreens. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 38, n. 4, p. 346–353, 2016.

CERUKS, M. et al. Artigo. v. 30, n. 3, p. 597–599, 2007.

CHAKRABORTY, M.; MITRA, A. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp. **Food Chemistry**, v. 107, n. 3, p. 994–999, 2008.

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

CHIARI, B. G. et al. Synergistic effect of green coffee oil and synthetic sunscreen for health care application. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 389–393, 2014.

CHINCHANSURE, A. A. ET AL. Recent development of plant products with anti-glycation activity: A review. **The Royal Society of Chemistry**, 2015.

CHOQUENET, B. et al. Quercetin and rutin as potential sunscreen agents: Determination of efficacy by an in vitro method. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 6, p. 1117–1118, 2008.

CICCO, N.; LANORTE, M.T.; PARAGGIO, M.; VIGGIANO, M.; LATTANZIO, V. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. **Microchemical journal**, v. 91, p. 107–110. 2009.

COLE, E. R. et al. Chemical composition of essential oil from ripe fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi and evaluation of its activity against wild strains of hospital origin. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 821–828, 2014.

COSTA, C. O. D. **Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de Myracrodruon urundeuva Allemão e Schinus terebinthifolius Raddi**. - Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia, 2011.

COSTA, C. T. C. et al. Anthelmintic activity of *Cocos nucifera* L. on intestinal nematodes of mice. **Research in Veterinary Science**, v. 88, n. 1, p. 101–103, 2010.

COSTA, S. C. C. et al. In vitro photoprotective effects of *Marcetia taxifolia* ethanolic extract and its potential for sunscreen formulations. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 4, p. 413–418, 2015.

CRIADO, P. R.; MELO, J. N. DE; OLIVEIRA, Z. N. P. DE. Topical photoprotection in childhood and adolescence. **Jornal de Pediatria**, v. 88, n. 3, p. 203–10, 2012.

DALL'ACQUA, S. The Photodegradation of Quercetin: Relation to Oxidation. **Molecules**, v.17, p. 8898-8907, 2012.

DEBMANDAL, M.; MANDAL, S. Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae): In health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 3, p. 241–247, 2011.

DE FREITAS, R. B., Desenvolvimento de fitocosmético antioxidante a partir de extrato padronizado do coco (*Cocos nucifera*): um estudo comparativo entre as variedades amarela e verde. **Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêutica – Universidade Federal do Ceará – Fortaleza**, 2017.

DEGÀSPARI, C. H. ET AL. Atividade Antioxidante de Extrato de Fruto de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) Antioxidant Activity of Extracts from Fruit of Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Visão Acadêmica, Curitiba**, v. 5, p. 83–89, 2004.

DEGÁSPARI, H. C.; et al., Atividade Antimicrobiana de *Shinus terebinthifolius Raddi*. **Ciência e agrotencologia**. V. 3, n. 29, 2005.

DEY, G.; SACHAN, A.; GHOSH, S.; MITRA, A. Detection of major phenolic acids from dried mesocarpic husk of mature coconut by thin layer chromatography. **Industrial Crops and Products**, v. 18, p. 171-176, 2003

DONGLIKAR, M. M.; DEORE, S. L. Sunscreens : A review. v. 8, n. 3, p. 171–179, 2016.

DZIAŁO, M. et al. The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 2, p. 1–41, 2016.

EGERT, S.; RIMBACH, G. Which Sources of Flavonoids: Complex Diets or Dietary Supplements. **Advances in Nutrition: An International Review Journal**, v. 2, n. 1, p. 8–14, 2011.

EMBRAPA, E. B. DE P. A. Cultivo da aroeira-vermelha. **Serie Documentos - 294**, p. 24, 2016.

ESQUENAZI, D. et al. Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract. **Research in Microbiology**, v. 153, n. 10, p. 647–652, 2002.

FAHLMAN, B. M.; KROL, E. S. UVA and UVB radiation-induced oxidation products of quercetin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 97, n. 3, p. 123–131, 2009.

FERNANDES, F. F., **Investigação do processo de fotodegradação em compostos ativos de filtros solares através das técnicas de absorção UV VIS, FTIR, e tensiometria óptica. Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal de Alagoas - Programa de Pós-Graduação em Física, 2014.

FIGUEIRA, C. N. T.; SANTOS, R. M.; CAMPESATTO, E. A.; LÚCIO, I. M. L.; ARAÚJO, E. C.; BASTOS, M. L. Biological activity of the *Cocos Nucifera* L. And its profile in the treatment of diseases: A review, **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 5, p. 297-302, 2013.

FILHO, J. M. T. A. ET AL. Flavonoids as photoprotective agents: A systematic review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 47, p. 848–864, 2016.

FLOR, J. et al. Protetores solares. **Química Nova**. v. 30, n. 1, p. 153–158, 2007.

FRAGA, C. G. et al. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 31, n. 6, p. 435–445, 2010.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. Schinus terebinthifolius Raddi. **Revista Fitos**, v. 6, p. 43–56, 2011.

GONÇALVES, K. M. et al. Assessment of the Photoprotective Activity of Lippia Species from Brazil and Their use as Single UV Filters in Sunscreens. **Journal of Young Pharmacists**, v. 7, n. 4, p. 368–372, 2015.

GONZÁLEZ, M. T. P. et al. Novel benzophenone-3 derivatives with promising potential as UV filters: Relationship between structure, photoprotective potential and phototoxicity. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, p. 200–210, 2017.

GLÓRIA, L. et al. Phenolic compounds present schinus terebinthifolius raddi influence the lowering of blood pressure in rats. **Molecules**, v. 22, n. 10, 2017.

GREGORIS, E. et al. Propolis as potential cosmeceutical sunscreen agent for its combined photoprotective and antioxidant properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 405, n. 1–2, p. 97–101, 2011.

GUPTA, V. K. et al. Photoprotective, antioxidant screening and new ester from dry root extracts of *Potentilla atrosanguinea* (Himalayan cinquefoil). **South African Journal of Botany**, v. 103, p. 49–53, 2016.

HALLIDAY, G. M.; LYONS, J. G. Inflammatory doses of UV may not be necessary for skin carcinogenesis. **Photochemistry and Photobiology**, v. 84, n. 2, p. 272–283, 2008.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. **Oxford University Press**, 4 ed., 2007.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 70, n. 5, p. 257–265, 2012.

HENRÍQUEZ, C. et al. Determination of Antioxidant Capacity, Total Phenolic Content and Mineral Composition of Different Fruit Tissue of Five Apple Cultivars Grown in Chile. **Chilean journal of agricultural research**, v. 70, n. 4, p. 523–536, 2010.

HIRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. DE M. Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 418–424, 2004.

HO, C. T.; WANG, M. Dietary Phenolics as Reactive Carbonyl Scavengers : Potential Impact on Human Health and Mechanism of Action. n. 3, p. 139–141, 2013.

HU, S. et al. Dietary polyphenols as photoprotective agents against UV radiation. **Journal of Functional Foods**, v. 30, p. 108–118, 2017.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

KAMMEYER, A.; LUITEN, R. M. Oxidation events and skin aging. **Ageing Research Reviews**, v. 21, p. 16–29, 2015.

KAUR, C. D., ET AL. Photochemoprotective Activity of Alcoholic Extract of *Camellia sinensis*. **International Journal of Pharmacology**, v. 7, 2011.

KRUTMANN, J. et al. The skin aging exposome. **Journal of Dermatological Science**, v. 85, n. 3, p. 152–161, 2017.

KUMAR, V., et al., Novel chalcone derivatives as potent Nrf2 activators in mice and human lung epithelial cells. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54 , n. 12, p. 4147- 59, 2011.

KUGANESAN, A. et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Peels , Pulp and Seed Kernels of Three Common Mango (*Mangifera Indica* L.)

Varieties in Sri Lanka. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 8, n. 1, p. 70–78, 2017.

LEITE FILHO, C. A. et al. Síntese de derivados da Vanilina e Avaliação como Agentes Fotoprotetores frente à Radiação UVB. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 2057–2071, 2016.

LI, J. K. ET AL. Natural plant polyphenols for alleviating oxidative damage in man: Current status and future perspectives. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 5, p. 1089, 2016.

LI, Y. et al. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. **Food Chemistry**, v. 96, n. 2, p. 254–260, 2006.

LIMA, E. B. C. et al. Cocos nucifera (L.)(Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 11, p. 953–964, 2015.

LIMA, E. B. C. et al. Antidepressant, antioxidant and neurotrophic properties of the standardized extract of Cocos nucifera husk fiber in mice. **Journal of Natural Medicines**, v. 70, n. 3, p. 510–521, 2016.

LIN, J. Y. et al. UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 48, n. 6, p. 866–874, 2003.

LOURITH, N.; KANLAYAVATTANAKUL, M.; CHINGUNPITAK, J. Development of sunscreen products containing passion fruit seed extract. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, n. 1, p. 1–8, 2014.

MANAIA, E. B. et al. Inorganic UV filters. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 2, p. 201–209, 2013.

MANSUR, J. S. et al. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 61, n. 3, p. 121–124, 1986a.

MANSUR J. S. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em



seres humanos e por espectrofotometria. **Anais brasileiros de dermatologia** 61: 167-172, 1986b.

MARQUES, S. P. D. **Nova proposta para rápida formação/combate dos Produtos de Glicação Avançada (AGEs) e propriedades farmacológicas de Hancornia speciosa Gomes - Tese de Doutorado**, [s.l.] Universidade Federal do Ceará, 2017.

MATTOS, A. L. A. et al. Beneficiamento da casca de coco verde. **Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza**, p. 37, 2011.

MELO, P. S. et al. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 1088–1093, 2011.

MENDONÇA-FILHO, R. R. et al. Leishmanicidal activity of polyphenolic-rich extract from husk fiber of *Cocos nucifera* Linn. (Palmae). **Research in Microbiology**, v. 155, n. 3, p. 136–143, 2004.

MILESI, S. S.; GUTERRES, S. S. Fatores Determinantes da Eficácia de Fotoprotetores. **Caderno de Farmácia**, v. 18, n. 2, p. 81–87, 2002.

MONTAGNER, S. ; COSTA, A. Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento.pdf. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 263–269, 2009.

MONTEIRO, J. M. et al. Divulgação. v. 28, n. 5, p. 892–896, 2005.

MORAIS, D. R. et al. Antioxidant activity , phenolics and UPLC – ESI ( – ) – MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. **Food research International**, v. 77, p. 392–399, 2015.

MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunol Methods**. 65, 55-63,1983.

MUKHERJEE, P. K. et al. Bioactive compounds from natural resources against skin aging. **Phytomedicine**, v. 19, n. 1, p. 64–73, 2011.

NAPAGODA, M. T. et al. Photoprotective potential in some medicinal plants

used to treat skin diseases in Sri Lanka. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 1–6, 2016.

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

OLAYEMI, O.; ISIMI, C.; EKERE, K. Determination of sun protection factor number : an emerging in – vitro tool for predicting UV protection capabilities. **International journal of Herbal Medicine**, v. 5, n. 1, p. 6–9, 2017.

OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G. DE et al. Development and Evaluation of Photoprotective O/W Emulsions Containing Hydroalcoholic Extract of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2017, p. 1–8, 2017.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I.B.; SILVA, C.A., BECHARA, E.J.H.; DE BARROS, M.P.; MANO, C.M.; GOULART, M.O.F. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, p. 469–475. 2009.

OLIVEIRA, M. B. D. S. et al. Cocos nucifera Linn. (Palmae) husk fiber ethanolic extract: antioxidant capacity and electrochemical investigation. **Combinatorial chemistry & high throughput screening**, v. 16, n. 2, p. 121–9, 2013.

OMENA, C.M.B.; VALENTIM, I.B.; GUEDES, G.S.; RABELO, L.A.; MANO, C.M.; BECHARA, E.J.H.; SAWAYA, A.C.H.F.; TREVISAN, M.T.S.; DA COSTA, J.G.; FERREIRA, R.C.S.; SANT'ANA, A.E.G.; GOULART, M.O.F. antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seed of exotic brazilian fruits. **Food research International**, v. 49 p. 334-344, 2012.

PAGANI, A. A. C. et al. Quantification of Bioactive Compounds of Pink (*Schinus Terebinthifolius*, Raddi). **International Journal of Engineering and Innovative Technology**, v. 4, n. 5, p. 37–41, 2014.

PARENGKUAN, L., YAGI, M., MATSUSHIMA, M., OGURA, M., HAMADA, U., YONEI, Y., Anti-glycation Activity of Various Fruits. **Anti-Aging Medicine**. 10(4), 70-76. 2013.

PENG, X. ET AL. Food & Function Naturally occurring inhibitors against the formation of advanced glycation end-products. **Food & Function**, v. 2, p. 289–301, 2011.

PEREZ, D, A., **Ácido ferúlico em protetores solares: desenvolvimento e eficácia multifuncional, in vitro ex vivo e in vivo. Tese de doutorado**, Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2015.

PINTO, L. P. **Análise dos efeitos do processo de Glicação na pele humana através de Espectroscopia Raman Confocal in vivo - Dissertação de Mestrado**. Universidade do Vale do Paraíba - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, 2014.

POLONINI, H. C. et al. Photoprotective activity of resveratrol analogues. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 964–968, 2013.

PRÁ, V. et al. Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from palm pressed fiber with high antioxidant and photoprotective activities. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 36, p. 362–366, 2017.

PRIOR, R. L; WU, X; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290- 4302, 2005.

PROCHÁZKOVÁ, D.; BOUŠOVÁ, I.; WILHELMOVÁ, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**, v. 82, n. 4, p. 513–523, 2011.

RATNASOORIYA, W. D. et al. Methanolic Leaf Extract of Ipomoea Pes-caprae Possesses In Vitro Sun Screen Activity. **Imperial Journal of Interdisciplinary Research**, v. 3, n. 2, p. 2454–1362, 2017.

RIBEIRO, C. **Cosmetologia aplicada a dermoestética**. Pharmabooks, 2006.

ROGGIA, I. et al. Validação de metodologia analítica para a determinação de benzofenona-3 nanoencapsulada incorporada em creme gel e estudo da estabilidade físico química. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 2, p. 223–232, 2014.

- ROOPAN, S. M. An Overview of Phytoconstituents, Biotechnological Applications, and Nutritive Aspects of Coconut (*Cocos nucifera*). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 179, n. 8, p. 1309–1324, 2016.
- ROORDA, M. M. Therapeutic interventions against accumulation of Advanced Glycation End products ( AGEs ). **Glycative Stress Research**, v. 31, n. Glo I, p. 132–143, 2017.
- SAEWAN, N.; JIMTAISONG, A. Photoprotection of natural flavonoids. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 9, p. 129–141, 2013.
- SANTANA, J. S. et al. Essential oils from *Schinus terebinthifolius* leaves chemical composition and in vitro cytotoxicity evaluation. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 10, p. 1248–1253, 2012.
- SANTOS, D. S.; RODRIGUES, M. M. F.; FARIAS RODRIGUES, M. M. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 3, p. 29, 2017.
- SANTOS, C. T. **Frutos de *Shinus terebinthifolius* Raddi: Extração ativa, estudo fitoquímico e incorporação em filmes bioativos de pectina - Tese de Doutorado** - Universidade Estadual de Feira de Santana, 2017.
- SAYRE, R. M.; AGIN, P. P.; LEVEE, G. J.; MARLOWE, E. Comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas. **Photochemistry and Photobiology**, v. 29, p. 559-565, 1979.
- SCALIA, S.; MEZZENA, M. Photostabilization effect of quercetin on the UV filter combination, butyl methoxydibenzoylmethane-octyl methoxycinnamate. **Photochemistry and Photobiology**, v. 86, n. 2, p. 273–278, 2010.
- SHALKA, S., et al., Brazilian Consensus on photoprotection. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 89 , 2014.
- SHEN, Y.; XU, Z.; SHENG, Z. Ability of resveratrol to inhibit advanced glycation end product formation and carbohydrate-hydrolyzing enzyme activity, and to conjugate methylglyoxal. **Food Chemistry**, v. 216, p. 153–160, 2017.
- SILVA, R. R. et al. Anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial activities of

Cocos nucifera var. typica. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 107, 2013.

SILVA, R. R. et al. A luz e os filtros solares: Uma temática sociocientífica. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 218–241, 2015.

SILVA, R. V. **Princípio ativo para formulação extrato dos frutos de *spondias purpurea* L . Como princípio ativo para formulação fitocosmética fotoprotetora**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Feira de Santana, 2015.

SILVA, R. V. et al. In vitro photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 509–514, 2016.

SINDURANI, J. A., RAJAMOHAN, T., Effects of different levels of coconut fiber on blood, glucose, serum insulin and minerals in rats. **Indian J. Physiol Pharmacol.** 44 (1), 97-100. 2000.

SINGH, M.; SHARMA, V. Spectrophotometric Determination of Sun Protection Factor and Antioxidant Potential of an Herbal Mixture. **British Biotechnology Journal**, v. 10, n. 3, p. 1–8, 2015.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.S. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SIVAKUMAR, M. K. et al. Preliminary phytochemical screening and anti-bacterial activity of *Cocos nucifera* Linn. root. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 2, n. 4, p. 468–477, 2011.

SOUZA, F. P.; CAMPOS, G. R.; PACKER, J. F. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. - Acerola. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 69–77, 2013.

STEVANATO, R.; BERTELLE, M.; FABRIS, S. Photoprotective characteristics of natural antioxidant polyphenols. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 69, n. 1, p. 71–77, 2014.

STORCKERT, J. C.; BLÁZQUEZ-CASTRO, A.; CANETE, M.; HOROBIN, R. W.; VILLANUEVA, A., MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. *Acta Histochemica*. v.114, p. 785-796, 2012.

SUVA, M. A. Evaluation of Sun Protection Factor of Zingiber officinale Roscoe Extract by Ultraviolet Spectroscopy Method. **Jornal of pharmascitech**, v. 3, n. 2, p. 4376, 2014.

TANG, W.; BHUSCHAN, B, Adhesion, friction and wear characterization of skin and skin cream using atomic force microscope. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 76, p. 1-15, 2010.

THOMAS, T. et al. Coconut products and its pharmaceutical applications : A review. **Current Research in Drug Targeting**, v. 7, n. 1, p. 1-4, 2017.

THORNALLEY, P. J., Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation end products. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 419, 31-40, 2003.

TYAGI, N., HOODA, V., HOODA, A., MALKANI, S., Evaluation of antidiabetic potential of ethanolic and aqueous extract of cocos nucifera endocarp. *World J. of pharmacy and pharmaceutical sciences*, v. 4(7), p. 1112-1120. 2015.

VALADEZ-CARMONA, L. et al. Effect of microwave drying and oven drying on the water activity, color, phenolic compounds content and antioxidant activity of coconut husk (*Cocos nucifera* L.). **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 9, p. 3495-3501, 2016.

VELASCO, M. V. R., ET AL. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora ( in vitro ) – revisão. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 32, n. 1, p. 27-34, 2011.

VIDAL, L. et al. Sensitive determination of free benzophenone-3 in human urine samples based on an ionic liquid as extractant phase in single-drop microextraction prior to liquid chromatography analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1174, n. 1-2, p. 95-103, 2007.

VILELA, F. M. P. et al. Commercial sunscreen formulations: UVB irradiation stability and effect on UVB irradiation-induced skin oxidative stress and

inflammation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 163, p. 413–420, 2016.

VINHAL, D. C. **Planejamento , Síntese , Caracterização e Avaliação Toxicológica de um Novo Composto Candidato a Protótipo de Fotoprotetor Orgânico - LQFME184**. Universidade Federal de Goiás Faculdade de Farmácia Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, 2016.

VIOLANTE, I. M. P. ET AL. in vitro de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. **Acta Botanica Brasilica**, v. 89, n. 3, p. 175–179, 2008.

VISTOLI, G. et al. Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation. **Free Radical Research**, v. 47, n. sup1, p. 3–27, 2013.

WANG, S. Q.; BALAGULA, Y.; OSTERWALDER, U. Photoprotection: A review of the current and future technologies. **Dermatologic Therapy**, v. 23, n. 1, p. 31–47, 2010.

WANG, W. et al. Phytochemicals from berries and grapes inhibited the formation of advanced glycation end-products by scavenging reactive carbonyls. **Food Research International**, v. 44, n. 9, p. 2666–2673, 2011.

WANG, Y.; HO, C.-T. Flavour chemistry of methylglyoxal and glyoxal. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 11, p. 4140, 2012.

XAVIER, J. D. A. et al. Polyphenol profile by UHPLC-MS / MS , anti- glycation , antioxidant and cytotoxic activities of several samples of propolis from the northeastern semi-arid region of Brazil. **Pharmaceutical Biology**, v. 0, n. 0, p. 1884–1893, 2017.

YEH, W.-J. et al. Polyphenols with antiglycation activity and mechanisms of action: A review of recent findings. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, n. 1, p. 84–92, 2017.

ZILLICH, O. V. et al. Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 37, n. 5, p. 455–464, 2015.