



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

Escola de Farmácia

Departamento de Farmácia - DEFAR



LETICIA FERNANDES COSTA MEDEIROS

**FORMULAÇÃO DE PROTETOR SOLAR NATURAL A PARTIR DA
INCORPORAÇÃO DO EXTRATO DA FOLHA DE *HUMULUS LUPULUS***

Ouro Preto - MG – Brasil

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

Escola de Farmácia

Departamento de Farmácia - DEFAR



LETICIA FERNANDES COSTA MEDEIROS

**FORMULAÇÃO DE PROTETOR SOLAR NATURAL A PARTIR DA
INCORPORAÇÃO DO EXTRATO DA FOLHA DE *HUMULUS LUPULUS***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal de
Ouro Preto como parte das como requisito
necessário para a obtenção do Grau de
Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Orlando Henrique
David dos Santos

Co-orientadora: Jéssica Silva Sampaio

Ouro Preto - MG – Brasil

2023



FOLHA DE APROVAÇÃO

Leticia Fernandes Costa Medeiros

FORMULAÇÃO DE PROTETOR SOLAR NATURAL A PARTIR DA INCORPORAÇÃO DO EXTRATO DA FOLHA DE *Humulus lupulus*

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutica

Aprovada em 29 de agosto de 2023

Membros da banca

Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto
MSc Jéssica Silva Sampaio - Co-orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Prof. Dr. André Luís Morais Ruela - Universidade Federal de Ouro Preto
MSc Larissa Silva Sampaio - Co-orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 05/09/2023



Documento assinado eletronicamente por **Orlando David Henrique dos Santos, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 05/09/2023, às 11:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0586026** e o código CRC **399388CF**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força e fé nos momentos mais difíceis.

A minha família pelo apoio e incentivo, por acreditar em mim e nunca poupar esforços pela minha felicidade.

A Universidade Federal de Ouro Preto e EFAR pela oportunidade de realização desse curso.

Ao Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos por toda orientação, tranquilidade e compreensão concedida no desenvolvimento do projeto.

A minha co-orientadora Jéssica Silva Sampaio pela oportunidade, incentivo e confianças depositadas em mim.

A todos os colaboradores do laboratório de fitotecnologia pelo apoio na realização do trabalho.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Enfim, a todos que de alguma forma, contribuíram para a realização desse projeto.

Muito Obrigada!

RESUMO

O Sol é essencial para o ser humano, porém, a radiação solar pode causar prejuízos ao organismo, através do seu excesso. A energia radiante emitida pelo Sol na forma de radiação é denominada radiação solar - ondas eletromagnéticas. A radiação UV é considerada de menor energia, possibilitando maior penetração na pele e, ao atingir a derme, é responsável pelo fotoenvelhecimento, podendo causar um grande número de patologias. Para a prevenção dessas doenças associadas à exposição ao sol está a necessidade do uso de protetores solares. Mesmo que o uso de protetores solares seja essencial, evidências mostram que eles têm sido contaminantes nos alimentos e no ambiente, além de causarem reações alérgicas por fotocontato. A planta *Humulus Lupulus L.* (Cannabaceae), conhecida como lúpulo, é utilizada na indústria de cervejas. Todavia, através de estudos fitoquímicos de sua folha, foi detectado que possuem compostos fenólicos e flavonoides, podendo ser fonte de moléculas bioativas e com potencial de atividade antioxidante. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi formular uma base de protetor solar natural e incorporar o extrato de *H. lupulus*. Para tal, foram realizadas metodologias que iniciaram a partir da formulação da base para posterior incorporação de *H. lupulus*, assim, através de um desenho experimental com formulações, foi possível determinar a melhor combinação entre as variáveis de DMSO, Poloxamer e Carbopol. Depois de selecionada, o processo foi repetido da mesma forma para a incorporação da fração butanólica, e, posteriormente, foram realizados métodos de avaliação: FPS (Fator de Proteção Solar); DPPH; ABTS; físico-química do produto e estabilidade. Dessa forma, foi possível formular um protetor solar com amplo espectro de proteção ultravioleta a partir do extrato de *H. lupulus*, além de obter capacidade antioxidante e atividade fotoprotetora.

Palavras chaves: *H. lupulus*; fotoproteção; formulação; radiação solar; protetor solar

ABSTRACT

The Sun is essential for human beings, however, solar radiation can cause damage to the body through its excess. The radiant energy emitted by the Sun in the form of radiation is called solar radiation - electromagnetic waves. UV radiation is considered lower energy, allowing greater penetration into the skin and, upon reaching the dermis, is responsible for photoaging and can cause a large number of pathologies. The need to use sunscreens is for the prevention of these diseases associated with sun exposure. Even though the use of sunscreens is essential, evidence shows that they have been contaminants in food and the environment, as well as causing photocontact allergic reactions. The plant *Humulus Lupulus L.* (Cannabaceae), known as hop, is used in the beer industry. However, through phytochemical studies of its leaf, it was detected that they have phenolic compounds and flavonoids, which could be a source of bioactive molecules with potential antioxidant activity. Therefore, the objective of the work was to formulate a base for natural sunscreen and incorporate the extract of *H. lupulus*. For this, methodologies were carried out that started from the formulation of the base for later incorporation of *H. lupulus*, thus, through an experimental design with formulations, it was possible to determine the best combination between the variables of DMSO, Poloxamer and Carbopol. After being selected, the process was repeated in the same way for the incorporation of the butanolic fraction, and then evaluation methods are carried out: SPF (Sun Protection Factor); DPPH; ABTS; physico-chemical product and stability. In this way, it was possible to formulate a sunscreen with a broad spectrum of ultraviolet protection from the extract of *H. lupulus*, in addition to obtaining antioxidant capacity and photoprotective activity.

Key words: *H. lupulus*; Solar radiation; Photoprotection; Formulation; Sunscreen.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos fototipos de pele por Fitzpatrick.....	23
Tabela 2. Delineamento experimental fatorial 2^3 para as formulações do hidrogel.....	33
Tabela 3. Delineamento experimental fatorial 2^3 da composição das formulações de hidrogel.....	33
Tabela 4. Relação do EE x I para os comprimentos de onda de 290 a 320nm.	37
Tabela 5. Sistema Boot's Star Rating relacionado a razão UVA/UVB.	37
Tabela 6. Valores de FPS do Extrato Etanólico Bruto (EEB), Fração Hidrometanólica (AQU), Fração Hexânica (HEX), Fração Clorofórmica (CLOR) e Fração Butanólica (BUT).	44
Tabela 7. Caracterização das 8 formulações no tempo de 24 horas.....	47
Tabela 8. Caracterização das 8 formulações no tempo de 7 dias.....	51
Tabela 9. Impacto do carbopol em relação a formulação.....	53
Tabela 10. Comparação das formulações EEB e BUT em caracterização físico-química nos tempos de 24 horas e 7 dias	54
Tabela 11. Valores de FPS encontrados para extrato etanólico bruto (EEB), fração butanólica (BUT), branco e padrão na concentração de 2,0 mg/mL	57
Tabela 12. Razão UVA/UVB para as formulações butanólica e extrato etanólico bruto.	58
Tabela 13. Valores de IC50 obtidos para extrato etanólico bruto (EEB), fração butanólica (BUT) e formulação extrato etanólico bruto (Form EEB), formulação butanólica (Form BUT) e padrão Rutina.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (a) <i>Humulus lupulus</i> L. (Fonte: commons.wikimedia.org/wiki/; Atlas des plantes de France. 1891). (b) <i>Humulus lupulus</i> L. (Fonte: missouribotanicalgarden.org).....	27
Figura 2. Fórmula estrutural dos Flavonoides.....	30
Figura 3. Delineamento experimental fatorial 2^3 para as formulações do hidrogel.....	33
Figura 4. Componentes utilizados para formulação de interesse de número 7 representados em porcentagem.	35
Figura 5. Avaliação da absorção na região do UV dos extratos.....	42
Figura 6. Valores de FPS do Extrato Etanólico Bruto (EEB), Fração Hidrometanólica (AQU), Fração Hexânica (HEX), Fração Clorofórmica (CLOR) e Fração Butanólica (BUT).	44
Figura 7. Valores de tamanho de partículas encontrados nas 8 formulações obtidas pelo desenho experimental no tempo de 24 horas.....	47
Figura 8. Gráfico de superfície que caracteriza o tamanho de partícula das formulações versus concentrações de DMSO e Poloxamer.....	48
Figura 9. Gráfico de superfície que caracteriza o tamanho de partícula das formulações versus concentrações de Carbopol e Poloxamer.....	48
Figura 10. Gráfico de superfície que caracteriza o Índice de Polidispersão das formulações versus concentrações de DMSO e Poloxamer.....	49
Figura 11. Gráfico de superfície que caracteriza o Índice de Polidispersão das formulações versus concentrações de Carbopol e Poloxamer.....	50
Figura 12. Gráfico de otimização do delineamento experimental.	51
Figura 13. As imagens 1 e 3 retratam as formulações de extrato bruto e fração butanólica antes da centrifugação. As imagens 2 e 4 retratam as formulações de extrato bruto e fração butanólica após a análise de centrifugação	55

Figura 14. Gráficos retratando as absorvâncias das formulações de extrato etanólico bruto, fração butanólica e padrão na concentração de 2,0 mg/mL no intervalo de comprimento de onda de 260 a 400 nm.	56
Figura 15. Avaliação da citotoxicidade do extrato e formulações representada em gráficos com curva de viabilidade celular nos tempos de 24, 48, e 72 horas, referentes ao extrato etanólico bruto e formulação, fração butanólica e formulação e formulação branco.....	61
Figura 16. Gráficos caracterizam o comportamento reológico da formulação de extrato etanólico bruto (EEB) em diferentes temperaturas. As temperaturas nos títulos representam a média em cada gráfico.	63
Figura 17. Gráficos caracterizam o comportamento reológico da formulação da fração butanólica em diferentes temperaturas. As temperaturas nos títulos representam a média em cada gráfico.	64

LISTA DE SIGLAS

ABS	Absorbância
ABTS	Radical 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
AQUO	Fração aquosa
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BUT	Fração butanólica
CI	Concentração inibitória
CLOR	Fração clorofórmica
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EE	Efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda (λ)
Form EEB	Formulação do extrato etanólico bruto
Form BUT	Formulação butanólica
FPS	Fator De Proteção Solar
HEX	Fração hexânica
HM	Fração hidrometanólica
mv	milivolt
nm	Comprimento de onda
PEG 400	Polietilenoglicol
UV	Ultravioleta
UVA	Fração A da radiação ultravioleta

UVB	Fração B da radiação ultravioleta
UVC	Fração C da radiação ultravioleta
IPD	Índice de polidispersão
IV	Infravermelho
VIS	Visível
µg	micrograma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. JUSTIFICATIVA	14
3. REVISÃO TEÓRICA	15
3.1. Radiação solar	15
3.1.1. Radiação UV	16
3.2. Efeitos da radiação UV	17
3.3. Formulações Fotoprotetoras	18
3.3.1. Protetores solares orgânicos	19
3.3.2. Protetores solares inorgânicos	20
3.4. FPS	21
3.5. Hidrogéis Formadores de Filme	23
3.6. Uso produtos naturais.....	25
3.7. <i>Humulus lupulus L.</i>	27
3.7.1. Compostos Químicos.....	29
4. OBJETIVOS	31
4.1. Objetivo geral.....	31
4.2. Objetivos específicos.....	31
5. METODOLOGIA	32
5.1. Avaliação da absorção na região do UV	32
5.2. Obtenção das formulações pelo delineamento experimental fatorial	32
5.3. Caracterização físico-química e otimização das formulações.....	34
5.4. Obtenção da formulação de interesse	35
5.5. Teste de centrifugação.....	35

	12
5.6. Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS).....	36
5.7. Razão UVA/UVB.....	37
5.8. Avaliação do potencial antioxidante dos extrato e formulações	38
5.8.1. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)	38
5.8.2. ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)	39
5.9. Avaliação da citotoxicidade do extrato e formulações.....	40
5.10. Avaliação da temperatura de gelificação.....	41
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
6.1. Avaliação da absorção na região do UV	42
6.2. Obtenção das formulações pelo delineamento experimental fatorial.....	45
6.3. Caracterização físico-química das formulações	46
6.4. Obtenção da formulação de interesse.....	53
6.5. Teste de centrifugação.....	55
6.6. Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS).....	55
6.7. Razão UVA/UVB.....	58
6.8. Avaliação do potencial antioxidante dos extratos e formulações.....	59
6.9. Avaliação da citotoxicidade do extrato e formulações.....	60
6.10. Avaliação da temperatura de gelificação.....	63
7. CONCLUSÃO	66
8. REFERÊNCIAS	67

1. INTRODUÇÃO

A pele diz muito sobre a saúde de um indivíduo. Nesse sentido, o sol está diretamente ligado na influência da sensação de bem estar físico e mental, visto que ele estimula a produção de melanina e a síntese de vitamina D, ajudando a evitar problemas nos ossos (LOPES, 2020). Porém, mesmo que a radiação solar seja de suma importância para o ser humano, deve-se ter cuidado em relação ao tempo da exposição (MARTENDAL; BRANDEZ, SCHÜTZ, 2018).

A energia radiante emitida pelo Sol na forma de radiação é denominada radiação solar - ondas eletromagnéticas. Tal energia é responsável pelo aquecimento na Terra. A radiação eletromagnética apresenta divisão de acordo com seu comprimento de onda (λ): radiação ultravioleta (UV) (100-400nm), visível (400-800nm) e infravermelho (> 800 nm). Entre as radiações eletromagnéticas citadas, a luz ultravioleta (UV) é a que causa mais doenças, e a maioria das reações cutâneas fotobiológicas. Essa afirmação se deve ao fato de que a radiação solar aumenta com a redução do comprimento de onda. A radiação UV de energia menor penetra mais profundamente na pele e, ao atingir a derme, é responsável pelo fotoenvelhecimento (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Dessa forma, a radiação UV que incide no planeta pode causar um grande número de patologias, podendo se destacar as doenças de pele. As patologias na pele podem ser divididas em: crônicas, como o envelhecimento e câncer; e agudas, como a queimadura solar (COSTA *et al.*, 2019).

Para a prevenção dessas doenças associadas à exposição ao sol, além de evitar a luz do sol por muito tempo e usar roupas claras longas e chapéu, está a necessidade do uso de protetores solares. Protetores solares são preparações cosméticas que possuem formas de apresentação diversas, com formulações do tipo loções hidroalcoólicas, óleos, géis oleosos, emulsões óleo em água, emulsões água em óleo, bastões, aerossóis, etc. O protetor solar deve possuir elementos profiláticos e terapêuticos com moléculas que atuam como filtros, podendo absorver, refletir ou dispersar a radiação UV (SANTOS; SOBRINHO; OLIVEIRA, 2018).

O mecanismo de ação dos filtros nos protetores solares é dividido em físicos, através dos agentes inorgânicos e químicos, através dos agentes orgânicos (MOURA, 2020). Os filtros solares inorgânicos são minerais que dispersam ou refletem a radiação UV incidente. Já os filtros solares orgânicos são compostos aromáticos absorvem a energia da radiação UV incidente, na qual os elétrons no filtro saltam para um estado excitado, e quando retornam no estado fundamental a energia é liberada em comprimentos de onda maiores (MANCEBO, S *et al.*, 2014). Os filtros solares naturais são derivados de óleos vegetais, extratos glicólicos ou

fluidos que absorvem a radiação UV. Tais compostos capazes de absorver a radiação UV e serem antioxidantes potentes, são conhecidos como polifénóis, onde estão em destaque os flavonoides (MELO, 2015).

A planta popularmente conhecida como lúpulo, denominada *Humulus lupulus* (Cannabaceae), é utilizada na indústria de cervejas. Porém, através de estudos fitoquímicos de sua folha, foi detectado que possuem compostos fenólicos e flavonoides, podendo ser fonte de moléculas bioativas e com potencial de atividade antioxidante (SANTOS, 2018).

2. Justificativa

O Sol é essencial para o ser humano, porém, a radiação solar pode causar prejuízos ao organismo, através do seu excesso. Mesmo que o uso de protetores solares seja essencial, evidências mostram que eles têm sido contaminantes nos alimentos e no ambiente. Estudos apontam que filtros solares já foram encontrados no ecossistema aquático, além de águas residuais e em lodo de esgoto tratado, o que pode gerar problemas ambientais e agravar a saúde das pessoas (GARCIA *et al.*, 2015).

O *Humulus Lupulus L.* é uma planta que tem sido usada como planta medicinal há muito tempo devido à sua riqueza em compostos fenólicos. Pode-se citar dentre as características estudadas dos flavonoides nas plantas: proteção contra raios ultravioleta, insetos e microorganismos; atividade antioxidante, anticancerígenas, anti-inflamatórias e antitrombóticas; ação como agentes alelopáticos e inibidores de enzimas. Através de estudos recentes, foram observados níveis de compostos fenólicos e flavonoides na folha do lúpulo. Tais considerações levam a considerar que as folhas possuem ação antioxidante e são fontes de moléculas bioativas, além de terem atividade antitumoral (SILVA, 2020). Isso mostra que as folhas do lúpulo possuem várias características propícias para serem usadas em produtos no futuro, e isso, será possível através de mais estudos da comunidade científica.

3. REVISÃO TEÓRICA

3.1. Radiação solar

O sol é de suma importância na vida terrestre, visto que através da sua energia pode-se garantir a evolução dos seres vivos. Os raios solares podem oferecer inúmeros benefícios aos seres vivos, como a fotossíntese, síntese de vitamina D e K, prevenção de doenças ósseas (raquitismo e osteoporose), tratamento de icterícia, além do bem-estar físico e mental. No entanto, a radiação solar em excesso pode causar diversos efeitos maléficos, como queimadura solar, o fotoenvelhecimento e o câncer de pele (MAES; MARENUS; SMITH, 1992).

O sol está presente a uma distância média da Terra, podendo exercer o papel de manter os níveis de temperatura adequados para a atmosfera terrestre, e isto é exercido através da energia sob a forma de radiação eletromagnética. A energia emitida pelo sol, conhecida como radiação solar, se propaga em direções através do espaço por meio de ondas eletromagnéticas, que sofre um processo de enfraquecimento na atmosfera devido a presença das nuvens e de sua absorção por moléculas de gases ou de partículas em suspensão. Ao atravessar a atmosfera, a radiação solar alcança a superfície terrestre, podendo ser refletida ou absorvida (ALVES *et al.*, 2021).

O espectro eletromagnético é uma escala de radiações eletromagnéticas, onde pode-se dividir em ondas: raios gama, raios x, raios ultravioletas (UV), luz visível, raios infravermelhos (IV), micro-ondas e ondas de rádio (OKUNO; VILELA, 2005). Todavia, aproximadamente 93% da energia emitida pelo sol é retida pela atmosfera, e 7% dela consegue atingir a superfície terrestre. Essa energia que atinge a superfície terrestre é conhecida como espectro solar terrestre, sendo classificada de acordo com seu comprimento de onda (λ) e intensidade: radiação ultravioleta (UV) (100-400nm), visível (400-800nm) e infravermelho (> 800 nm). Deve-se destacar que a energia que as radiações conduzem é inversamente proporcional ao seu comprimento de onda. Nesse sentido, a radiação UV é a mais energética, pois possui menor comprimento de onda, e conseqüentemente, consegue penetrar na pele com maior facilidade (FLOR; DAVALOS; CORREA, 2007).

Os raios visíveis atingem a Terra numa proporção de 45% e os raios infravermelhos cerca de 50%, sendo considerado o maior. Porém, mesmo com apenas 5% dessa proporção, os raios ultravioletas são os principais responsáveis pelos efeitos maléficos aos seres humanos (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

A radiação visível (Vis) também consegue atingir com facilidade a atmosfera, é caracterizada por ser a luz visível aos olhos humanos, sendo percebida pelas diferentes cores detectadas pelo sistema óptico. Já a radiação infravermelha (IV) possui maior comprimento de onda que a ultravioleta (UV) e, por isso, sua energia é menor. Além disso, ela pode ser percebida sob a forma de calor, sendo capaz de ocasionar vasodilatação da pele, além de potencializar os efeitos induzidos pelas radiações UV. A radiação ultravioleta, pode ser percebida através de reações fotoquímicas, podendo causar diversos efeitos prejudiciais ao ser humano (MASSON; SCOTTI, 2003; FLOR; DAVALOS; CORREA, 2007).

3.1.1. Radiação UV

A radiação ultravioleta ocupa a região do espectro eletromagnético entre a luz visível e os raios-X, e se encontra entre os comprimentos de onda de 100 nm a 400 nm, podendo ser divididas em três subgrupos: UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (100-280 nm) (SGARDI *et al.*, 2007).

A radiação UVA (320-400 nm) é classificada como a mais abundante, tendo uma proporção com cerca de 95% de toda radiação UV que atinge a Terra. Isso se deve ao fato de ter a faixa de energia mais baixa, o que garante um alto poder de penetração na pele e interação com as estruturas cutâneas (SCHUELLER; ROMANOWSKI, 2000). Essa penetração profunda na derme pode causar danos na estrutura da pele, tendo como consequência o fotoenvelhecimento, ou em casos mais graves o câncer. Os raios UVA, além de potencializarem o efeito da radiação UVB, podem agir criando radicais livres e átomos de oxigênio reativos, induzindo o envelhecimento. Sendo assim, os raios UVA são os principais responsáveis por efeitos cumulativos da radiação solar (OSTERWALDER; LUTHER; HERZOG, 2000).

A radiação UVB apresenta comprimento de onda inferior e maior quantidade de energia comparando com a radiação UVA. Essa radiação interage com o DNA, podendo produzir mutações nos dímeros de pirimidina que estão associadas ao câncer de pele não-melanoma. Ela afeta especialmente a camada epidérmica da pele, na qual compreende cerca de 5% das UVs que alcançam a superfície da Terra, além de ser responsável por 90% das queimaduras solares. Os raios UVB são responsáveis pela transformação do ergosterol epidérmico em vitamina D, o que contribui para o bronzeamento e, conseqüentemente, pode causar envelhecimento precoce das células (HAWK; MCGREGOR, 2001).

Possuindo elevada taxa de energia e capacidade de penetração maior, a radiação UVC é caracterizada por ser absorvida em grande parte pela camada de ozônio da atmosfera,

chegando à superfície terrestre em pequenas quantidades. Sendo assim, são consideradas danosas ao tecido vivo por serem altamente eritematógenas, possuindo efeitos carcinogênicos e mutagênicos. Nesse sentido, um grave problema seria a diminuição do nível de ozônio, o que provocaria um aumento na quantidade de radiação (MATHEUS; KUREBAYASHI, 2002).

3.2. Efeitos da radiação UV

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, e possui o papel de ser a barreira protetora contra radiações solares. Ela é composta por 3 camadas: epiderme, derme e hipoderme. As camadas epiderme e derme possuem ação com efeitos fotobiológicos da radiação UV (BARBASA, 2011).

Os efeitos da radiação solar na pele vão depender de alguns parâmetros: tipo de pele, frequência de exposição, tempo de exposição, localização geográfica, período do dia e condição climática. Condições ideais e equilibradas dessa exposição podem garantir benefícios ao ser humano, como produção de melanina e vitamina D, estímulo à circulação sanguínea periférica, capacidade de formação da hemoglobina, ação antidepressiva, efeito terapêutico em enfermidades cutâneas, como psoríase, dermatite atópica, micose fungoide, vitiligo e icterícia neonata, entre outros. Entretanto, em excesso, através de reações fotoquímicas, essa exposição pode causar danos nocivos a vida humana, como, por exemplo, queimaduras, inflamações, mutações gênicas e disfunções celulares, e, a longo prazo, câncer de pele, danos oculares e envelhecimento precoce (FLOR *et al.*, 2007; BALOGH *et al.*, 2011).

Culturalmente, o bronzeamento intenso é visto como símbolo de beleza e saúde, porém, sabe-se que a exposição excessiva pode causar danos macroscópicos e microscópicos no corpo. Em geral, o fotoenvelhecimento é um processo causado pelo excesso de exposição solar, ou pelo bronzeamento artificial, e aparece em indivíduos entre 30-40 anos de idade, porém, isso muda de acordo com o tipo de pele, intensidade e duração da exposição (TOFETTI *et al.*, 2006).

O fotoenvelhecimento é caracterizado por manchas escuras ou claras, alteração da superfície da pele, perda da elasticidade, rugas, entre outros. Esse envelhecimento precoce da pele está relacionado com a produção de radicais livres. Isso ocorre devido absorção da radiação solar promovida por cromóforos presentes na pele, na qual geram uma energia que é dissipada, formando radicais livres que se ligam em células saudáveis. Essa ação faz com que ocorra uma ruptura e alteração de rotas metabólicas (SILVA, 2007).

A incidência da mortalidade por câncer está aumentando rapidamente no cenário mundial, nesse sentido, estudos revelam que um em cada cinco indivíduos terão câncer durante a vida (FERLAY *et al.*, 2021; SUNG *et al.*, 2021). O Instituto Nacional do Câncer estima que mais de 704 mil novos casos de câncer no Brasil para cada ano do triênio 2023-2025, sendo 220.490 mil estimados para os casos de câncer de pele não melanoma. O câncer de pele não melanoma é classificado como o mais frequente no Brasil, e é a quinta mais frequente no mundo. O câncer de pele é o tipo mais comum de todos os tipos de câncer, sendo os principais tipos: o carcinoma de células escamosas, o carcinoma basocelular (câncer de pele não melanoma) e o câncer de pele melanoma (se forma nos melanócitos, cresce e se espalha rapidamente) (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2022).

Induzindo a lesões cumulativas no DNA, a radiação UV é considerada o principal fator de risco para todos os tipos de câncer de pele. O carcinoma não melanoma é o mais comum e menos agressivo, aparece frequentemente em áreas expostas a pele de pessoas idosas, já que um dos fatores associados são idade, sexo e ocupação. Já o carcinoma de células escamosas são o segundo tipo de câncer de pele mais comum, e aparece na região superficial da pele expostas ao sol (braços, pernas, rosto e pescoço). O melanoma é o terceiro tipo mais comum e o mais grave, resultando em uma transformação maligna dos melanócitos, localizados principalmente na epiderme, derme e no epitélio mucoso. O melanoma pode aparecer de forma silenciosa, mas pode também se originar de uma mancha escura da pele. Além disso, o câncer de pele melanoma também merece destaque em relação as radiações ultravioletas não naturais, como lâmpadas de bronzeamento, camas solares e exposição aos bifenilos policlorados (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020).

3.3. Formulações Fotoprotetoras

Algumas prevenções são usadas para evitar o envelhecimento precoce como: evitar a luz do sol em excesso, uso de vestimentas, óculos e chapéus. Além disso, a hidratação é muito importante, sendo necessário administração de água a cada hora, principalmente quando o dia estiver em temperaturas mais altas (SANTOS *et al.*, 2018).

Algumas civilizações antigas tinham em comum na sua religião uma cultura do sol como um ser de divindade, entretanto, eles já consideravam que em excesso a exposição solar poderia fazer mal. Através desse fato, registros do Egito antigo de aproximadamente 7800 a.C., mostraram que haviam diversos inventos do filtro solar, sendo esses utilizados com a base de mamona, além de outros extratos, como magnólia, jasmim e óleo de amêndoas. Na Grécia,

durante os Jogos Olímpicos de 400 a.C., a fim de protegerem contra raios solares, atletas também utilizaram uma mistura de óleo de oliva e areia (SILVA *et al.*, 2015).

Atualmente, sabe-se que o uso constante do protetor solar é essencial para evitar o câncer de pele, sendo esse eficaz em evitar queimaduras provocadas pelas radiações. Segundo a legislação brasileira PORTARIA Nº 2.466, de 31 de agosto de 2010, os protetores solares são definidos como:

“Qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e lábios, com a finalidade exclusiva ou principal de protegê-la contra a radiação UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação” (BRASIL, 2012).

No Brasil, a população se encontra exposta a médias e altas incidências de radiação solar devido a sua característica marcante de tropicalidade. Sendo assim, para combater ou minimizar os efeitos danosos da radiação solar, a fotoproteção é o mecanismo mais usado. Os protetores solares possuem filtros que são moléculas ou complexos moleculares que podem absorver, refletir ou dispersar a radiação UV. De acordo com o seu mecanismo de ação, os filtros solares são divididos em duas classes: químicos ou orgânicos, e físicos ou inorgânicos. De modo geral, os compostos orgânicos protegem a pele através da absorção da radiação UV, e os inorgânicos pela reflexão da radiação UV (FLOR *et al.*, 2007).

A indústria farmacêutica e cosmética vem desenvolvendo substâncias que possuem formas de apresentação diversas. Assim, os filtros solares são encontrados na forma de loções hidroalcoólicas, óleos, géis oleosos, emulsões óleo em água (O/A), emulsões água em óleo (A/O), bastões e aerossóis, etc (BALOGH *et al.*, 2011). Todavia, os filtros solares necessitam de algumas características importantes para que possam ser utilizados em formulações, tais como: absorver a radiação ultravioleta no maior espectro de ação possível, serem eficazes em concentrações pequenas e por períodos prolongados, serem solúveis em solventes comuns, serem atóxicos e inodoros, manter estabilidade ao calor e luz, serem compatíveis com os componentes e a embalagem, serem bem tolerados pela pele e não interagirem com a roupa (PAOLA, 1998).

3.3.1. *Protetores solares orgânicos*

Os filtros solares químicos são aqueles que possuem a capacidade de absorver a radiação UV incidente e transformá-la em outro tipo de radiação, menos nociva ao ser humano. Os protetores orgânicos constituem a maioria dos filtros solares existentes no mercado, sendo

divididos em: filtros UVA, exercendo proteção contra os raios UVA, filtros UVB, exercendo proteção contra os raios solares UVB e filtro de amplo espectro, exercendo proteção contra os raios UVA e UVB (RANGEL; CORRÊA, 2002).

Existem diversos filtros solares orgânicos de origem sintética aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), porém, pode-se destacar alguns como os mais utilizados no mercado: 4-metoxicinamato de 2-etilexila ou octilmetoxicinamato (OMC); o 2-ciano-3,3-difenil-acrilato de 2-etilexila ou octocrileno (OCT) e 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona ou benzofenona 3 (BZF-3). Esses compostos possuem anéis aromáticos com grupos carboxílicos doadores de elétrons nas posições *orto* - *para*. Esses grupos são denominados cromóforos, sendo responsáveis pela absorção da radiação incidente (elétrons passam do estado fundamental para o estado ativado). Sobre a relação estrutura atividade, pode-se dizer que acontece por deslocalização dos elétrons através de ressonância. Isso acontece devido presença dos grupamentos doadores de elétrons nas posições *orto* - *para* e do grupamento carbonila, por ser um elétron receptor (ARAÚJO *at al.*, 2014).

Esses protetores solares podem ser obtidos através de origem sintética, ou de origem natural, como: extratos vegetais (aloe, hamamelis, camomila, cáscara sagrada, frângula, hipericum, ratânia, alecrim, sene, calêndula, boldo e própolis) e óleos (coco, algodão, gergelim, amendoim). Todavia, os filtros naturais possuem uma mistura muito complexa de substâncias que ainda precisam de estudos em relação a sua estabilidade (RANGEL; CORRÊA, 2002).

3.3.2. *Protetores solares inorgânicos*

As substâncias inorgânicas empregadas como fotoprotetores são o dióxido de titânio (TiO₂) e óxido de zinco (ZnO). Os filtros solares de inorgânicos são aqueles que conferem proteção devido a sua deposição sobre a pele, e agem refletindo ou dispersando a radiação incidente. Nesse processo de reflexão ou dispersão, a luz que incide sobre as partículas inorgânicas é refletida de volta ou espalhada por diferentes caminhos. Dessa forma, esses óxidos garantem ter grande proteção contra os raios UV. Além disso, eles possuem baixo potencial de irritação, relativa estabilidade, permeação cutânea e alta fotoestabilidade, fazendo com que seu uso seja recomendado para formulações fotoprotetoras infantis e para pessoas com histórico de pele sensível (SILVA, 2009).

Contudo, de acordo com o tamanho das partículas sólidas desses óxidos, o produto pode apresentar uma película branca sobre a pele, podendo ser transferida para vestimentas, o que conseqüentemente compromete sua ação fotoprotetora. Nesse sentido, para evitar

problemas, a ANVISA adotou o uso de fotoprotetores inorgânicos em 25% de concentração máxima usada, segundo Resolução RDC número 47, de 16 de março de 2006 (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

3.4. FPS

O fator de proteção solar (FPS) é usado para medir a ação fotoprotetora de um filtro solar. O FPS indica quantas vezes o tempo de exposição ao sol, sem o risco de eritema, pode ser aumentado com o uso do protetor. De modo geral, quanto maior for o FPS, maior será a proteção e o tempo que a pele ficará protegida frente à radiação UVB. Assim, o FPS é definido em função da radiação UVB causadora de eritemas, calculado através da Equação abaixo:

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

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

Para que o produto seja eficaz, é necessário que uma quantidade aplicada seja suficiente para garantir a fotoproteção. O padrão quantitativo para a aplicação é 2,0 mg/cm², ou seja, de 30 a 40 g do produto por um indivíduo adulto. Além disso, uma reaplicação na área também aumenta sua eficácia, visto que o suor, água e fricção podem remover o produto (MONTEIRO, 2008).

No Brasil, o método *in vivo* é o exigido pela legislação brasileira desde o ano 2012, onde a ANVISA determinou que para um fotoprotetor ser aprovado pelo órgão, as empresas precisam testar suas substâncias *in vivo* de acordo com métodos desenvolvidos pelo órgão americano FDA (*Food and Drug Administration*) e o órgão europeu COLIPA (*Comitee de la Liaison des Associations Europeans de L'Industries, de La Parfumerie de Produits Cosmetiques et de Toilette*). Ambos os métodos se utilizam de pacientes com fototipo I, II ou III. Para isso, a exigência define que o valor do FPS seja no mínimo 6,0 e proteção UVA 1/3 do valor do FPS declarado no rótulo. No caso do FDA, o FPS obtido em sua metodologia é repetido para 20 voluntários, e 10 voluntários, no caso da COLIPA. Por depender de voluntários, alto custo e profissionais especialistas para realização desse ensaio, mesmo sendo indispensável, essa etapa é considerada de último estágio para a realização dos testes de fotoproteção de um produto (BRASIL, 2012).

Além dos testes *in vivo*, também existem metodologias para realização da determinação do FPS *in vitro*. Esse método é realizado durante o desenvolvimento da formulação e no controle de qualidade, considerado rápido, eficaz e de menor custo. O método *in vitro*

espectrofotométrico desenvolvido por Mansur e colaboradores se destaca pela boa correlação ao teste *in vivo*. O método Mansur consiste no uso de um espectrofotômetro UV, avaliando as absorvâncias obtidas para os comprimentos de onda de 290 a 320 nm, com intervalos de 5 nm, onde utiliza-se uma diluição do filtro a 0,2 µL/mL em solventes como álcool ou éter. É medida a absorvância da solução em vários comprimentos de onda definidos, e utilizando a fórmula matemática abaixo é possível obter o valor do FPS (SANTOS, 2007; VINHAL, 2012).

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

onde,

FC = fator de correção (igual a 10);

EE = efeito eritematogênico;

I = intensidade da luz solar;

Abs = absorvância da amostra;

A fim de definir a resposta de diferentes tipos de pele de acordo com a sua sensibilidade aos raios UV, Fitzpatrick propôs em 1975 um sistema de classificação baseado na suscetibilidade do indivíduo a queimaduras e bronzeamento (FITZPATRICK, 1975). Essa proposta foi baseada na propensão da pele a se tornar hiperpigmentada por estímulo inflamatório e manter a hiperpigmentação por período prolongado. Portanto, esse sistema não pretendeu definir a etnicidade (ALCHORNE; ABREU, 2008). Existente desde 1975, os fototipos de Fitzpatrick é uma classificação internacional, sendo a mais usada até os dias atuais. Tal classificação é dividida em fototipos de I a VI, a partir da capacidade de cada pessoa em se bronzear, além de considerar a sensibilidade e vermelhidão. A tabela a seguir apresenta a classificação de fototipos determinada por Fitzpatrick (FITZPATRICK, 1988).

Tabela 1. Classificação dos fototipos de pele por Fitzpatrick

TIPO	FOTOTIPO	REAÇÃO À EXPOSIÇÃO SOLAR	SENSIBILIDADE AO SOL
I	Branca	Queima com facilidade adquirindo coloração vermelha e nunca bronzeia.	Muito sensível
II	Branca	Queima com facilidade e bronzeia pouco.	Sensível
III	Morena Clara	Pele bronzeia gradativamente podendo ficar vermelha.	Normal
IV	Morena Moderada	Queima pouco e bronzeia facilmente.	Normal
V	Morena Escura	Queima raramente, e bronzeia bastante.	Pouco sensível
VI	Negra	Nunca queima, e há muita pigmentação.	Não sensível

Fonte: Adaptado de Fitzpatrick, 1988.

3.5. Hidrogéis Formadores de Filme

O sistema de formação de filme se destaca como uma nova alternativa para formulações tópicas. Como base do sistema de formação de filme são necessários polímeros que são capazes de formar um filme transparente e flexível à temperatura da pele. Para isso, tais polímeros podem ser usados sozinhos ou combinados com outros polímeros formadores de filme. Filmes ideais precisam exibir características desejáveis, como taxa de dissolução rápida ou longo tempo de residência no local de administração, estabilidade de formulação aceitável, além de serem atóxicos, biocompatíveis e biodegradáveis (KARKI, S. *et al*, 2016).

Hidrogéis formadores de filme são uma opção aos veículos tradicionalmente utilizados na via tópica. São formulações transparentes de fácil aplicação que formam uma película de fácil remoção, sendo fina e com rápida secagem. A película formada possui flexibilidade, boa aderência a pele e propriedades menos oclusivas que melhoram a permeação do vapor de água através da pele, não deixando a sensação pegajosa no local de aplicação (KATHE; KATHPALIA, 2017).

Segundo a Farmacopeia Brasileira, 6ª ed (2019), géis são definidos como:

“Forma farmacêutica semissólida de um ou mais princípios ativos que contém um agente gelificante para fornecer firmeza a uma solução ou dispersão coloidal (um sistema no qual partículas de dimensão coloidal – tipicamente entre 1 nm e 1 mm – são distribuídas uniformemente através do líquido) e pode conter partículas suspensas” (BRASIL, 2019).

O termo hidrogel designa uma matriz hidrofílica intumescida ou dilatada com capacidade limitada de intumescimento em água ou meio aquoso. Devido sua grande quantidade de água retida, os hidrogéis possuem flexibilidade similar ao tecido, sendo candidatos interessantes para aplicações tópicas (PATEL; JOSHI, 2019).

Sua estrutura é constituída por uma (homopolímeros) ou mais (copolímeros) redes poliméricas tridimensionalmente estruturadas. São formadas por cadeias macromoleculares interligadas por ligações covalentes ou iônicas (reticulações) ou interações físicas (forças de van der Waals e ligações de hidrogênio) (OVIEDO; MÉNDEZ; GÓMEZ, 2008).

Inicialmente, os sistemas de formação de filmes eram usados no campo da cirurgia ou tratamento de feridas. A formulação aplicada fornece um filme resistente ao estresse fisiológico causado pelo movimento da pele. Entretanto, os sistemas de formação de filmes também podem ser usados com ingredientes ativos contidos em produtos de beleza, como tecnologias de formação de filme de silicone usadas para preparar cremes, pomadas cosméticas, máscara transparente para tratamento de hidratação da pele, problemas de acne, protetores solares, etc. O uso de hidrogéis é justificado devido algumas características peculiares existentes do mesmo, por exemplo: atoxicidade, capacidade de intumescer em água e fluído biológicos, consistência elastomérica, alta permeabilidade, facilidade de obtenção em diferentes formas, incorporação e liberação controlada de fármacos de diferentes polaridades (MOURA, 2005).

A disponibilidade de diversos polímeros permite conferir propriedades específicas aos filmes finos. Dentre os agentes gelificantes usados para formulação do hidrogel se destaca o carbopol. O carbopol se destaca com excelente eficiência de gelificação em baixas concentrações. Ele forma um gel transparente na água, sendo que sua gelificação depende do pH. Ele tem sido utilizado pela indústria farmacêutica em formulações líquidas e semi-sólidas devido sua baixa reatividade com outros componentes em uma fórmula e possui hidrofiliidade, além de ser considerado um bom agente espessante, emulsionante, gelificante e viscosificante (BLANCO-FUENTE *et al.*, 1996).

Outro agente gelificante muito utilizado em hidrogéis é o poloxamer 407, sendo este usado em concentrações um pouco mais altas do que o carbopol. Se destaca como um líquido

de gelificação termorreversível em condições refrigeradas e gel em temperatura ambiente. Os poloxâmeros são copolímeros que possuem uma gelificação termoresponsível, ou seja, são solúveis em água fria (4-8°C) e em temperatura de 37°C ocorre transição sol-gel. Essa conversão da transição sol-gel e gel-sol do gel termorreversível é justificada através de interações hidrofóbicas. Os polímeros são solúveis em água a baixas temperaturas, todavia, o aumento da temperatura favorece interações hidrofóbicas, levando a uma formação de micelas. Essas micelas em contato entre si formam o gel, sendo assim, um processo reversível com a diminuição da temperatura (RUEL-GARIÉPY, E. *et al.*, 2004).

Segundo Lee *et al* (2007), hidrogéis a base de PEG possuem alto conteúdo de água, garantindo um rápido transporte de biomoléculas (proteínas, ácidos nucleicos e células) através do gel. Além disso, também são consideradas biocompatíveis, garantindo maior segurança no uso em aplicações farmacêuticas.

O solvente orgânico dimetilsulfóxido, também conhecido como DMSO, é utilizado em várias formulações dermatológicas, visto que possui características importantes: alta penetração em membranas, vasodilatador, ação antiinflamatória, anti-séptica e analgesia local. Considerado um solvente penetrante, o DMSO possui penetração rápida através das membranas biológicas, todavia, vale destacar que não causa danos irreversíveis na membrana. Além disso, também possui capacidade de interagir com ácidos nucleicos, carboidratos, lipídeos, proteínas e vários fármacos sem alterar, de forma irreversível, a configuração molecular (BRAYTON, 1986; BATISTUZZO *et al.*, 2002).

3.6. Uso produtos naturais

Mesmo que hoje existem diversos filtros solares orgânicos de origem sintética aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que ajudam na prevenção dos malefícios causados pelos raios ultravioleta (UV), esses produtos ainda podem trazer prejuízos a pele das pessoas (reações alérgicas ou fotoalérgicas) e de seres marinhos, além de afetar o ambiente (DANOVARO *et al.*, 2008; ROMERO *et al.*, 2017).

Estudos revelam que a oxibenzona (benzofenona), composto encontrado em protetores solares orgânicos, sofre uma reação química capaz de causar danos às células na presença de luz ultravioleta, prejudicando espécies aquáticas, como corais (Downs *et al.*, 2021)

Atualmente, têm crescido o interesse em pesquisas de moléculas fotoestáveis utilizados em protetores solares, sobretudo em filtros baseados em produtos naturais. Visto que vegetais são capazes de produzir uma diversidade de estruturas sistemas conjugados que

conseguem absorver a UV, diversos produtos naturais poderiam ser utilizados nessas formulações. A literatura relata que estruturas com anéis aromáticos de metabólitos secundários, como propiofenonas, derivados do ácido caféico, lignanas e flavonoides, possuem atividades antioxidantes. Nesse sentido, seria viável a utilização dessas substâncias em protetores solares, visto que a escolha de novos ativos envolve a capacidade de absorção da luz UV pelos cromóforos de cada molécula associada à atividade antioxidante. Além dessas substâncias possuem substâncias cromóforas, fotoprotetoras e compostos antioxidantes, também pode-se destacar que esse interesse por produtos naturais também é explicado por estes apresentarem menores efeitos colaterais e agressividade ao meio ambiente (GUARANTINI *et al.*, 2009).

Dengo e Ferreira (2017), avaliaram o bagaço da uva Isabel como fonte de ativos vegetais com potencial para a capacidade de fotoproteção. Os autores relatam que detectaram a capacidade de incremento de FPS de extratos do bagaço da uva Isabel, sendo uma possibilidade de uso em formulações cosméticas com atividade fotoprotetora natural.

Os extratos vegetais são preparações obtidas a partir de matérias primas vegetais. Segundo a 6ª edição da Farmacopeia Brasileira de 2019, os extratos são definidos como:

“Preparações de consistência líquida, semissólida ou sólida, obtidas a partir de drogas vegetais, utilizando-se métodos extrativos e solventes apropriados. Um extrato é essencialmente definido pela qualidade da droga vegetal, pelo processo de produção e suas especificações. O material utilizado na preparação de extratos pode sofrer tratamentos preliminares, tais como, inativação de enzimas, moagem ou desgorduramento. Após a extração, materiais indesejáveis podem ser eliminados.” (BRASIL, 2019)

O mercado cosmético tem se destacado ao desenvolver produtos com componentes de origem natural. Assim, a indústria tem realizado a incorporação desses ativos em produtos para maximizar os resultados, prezando por comprovações científicas que garantem a eficácia e segurança da sua efetividade (FERRARI *et al.*, 2007).

Nesse sentido, vários extratos de plantas têm sido utilizados em produtos cosméticos como filtros solares, devido à sua ação fotoprotetora e atividades antioxidantes. Alguns estudos comprovaram que extratos ricos em flavonoides apresentaram potencial fotoprotetor considerável para uso. Exemplos desses extratos são da camomila e da própolis verde e vermelha (NASCIMENTO *et al.*, 2009).

3.7. *Humulus lupulus* L.

Humulus Lupulus Linnaeus é o nome científico da espécie que pertence à ordem das Rosales e à família Cannabaceae, da qual possui apenas dois gêneros, Cannabis e Humulus. Popularmente conhecido como lúpulo, seu gênero é formado por três espécies: *H. lupulus*, *H. japonicus* e *H. yunnanensi* (DURELLO, 2019). Os lúpulos silvestres, que deram origem aos lúpulos plantados atualmente, são nativos da Europa, Ásia e América do Norte. Formada por um sistema radicular, o lúpulo é uma planta trepadeira herbácea e perene. Além disso, possui flores que são ricas em resinas, a qual produzem alguns metabólitos secundários que conferem amargor, aromas e propriedades antissépticas. A planta também é rica em polifenóis, que justificam suas propriedades antioxidantes, e é capaz de produzir óleos essenciais que conferem seu aroma (BOCQUET *et al.*, 2018).

Figura 1. (a) *Humulus lupulus* L. (Fonte: commons.wikimedia.org/wiki/; Atlas des plantes de France. 1891). (b) *Humulus lupulus* L. (Fonte: missouriherbarium.org).



A família Cannabaceae apresenta 10 gêneros e cerca de 109 espécies. As plantas dessa família possuem folhas opostas ou alternadas, podendo ser inteiras a serradas, e possuem uma nervação classificadas com três a cinco nervuras basais. As flores podem ser bissexuais ou unissexuais, e inflorescência axilar, cimosa ou fasciculada. São plantas com hábito herbáceo, arbustivo ou arbóreo, com cristólitos nas folhas, ausência de laticíferos e tricomas simples com paredes celulares mineralizadas ou glandulosos. Além da espécie Humulus, essa família também inclui a Cannabis, espécie que também possui grande importância de valor econômico,

que através do canabinol pode atuar no tratamento de doenças que atingem do Sistema Nervoso Central (SILVA, 2023).

Amplamente cultivado em todo o mundo, o lúpulo é muito importante na indústria cervejeira. Tal interesse está relacionado às inflorescências das plantas femininas, chamadas de cone, que irão garantir a característica do aroma e amargor das cervejas, e isso se deve ao fato de possuírem grande quantidade de glândulas de lupulina, ricas em resinas e óleos essenciais. Já as inflorescências de plantas masculinas não são cultivadas na indústria cervejeira, pois possuem pequena quantidade de glândulas de lupulina em relação às inflorescências de plantas femininas, dessa forma, evita-se a polinização cruzada. Além disso, pode-se destacar grande produção de resinas produzidas em glândulas de lupulina, onde estão presentes compostos: alfa e beta-ácidos, responsáveis pelo amargor da cerveja, e os óleos essenciais, responsáveis pelo aroma da cerveja, além de vários compostos fenólicos (SPÓSITO *et al.*, 2019).

Os cones do lúpulo também têm sido utilizados há muito pela medicina convencional e a medicina natural. O lúpulo pode ser recomendado para o tratamento de distúrbios do humor, como inquietação e ansiedade, distúrbios do sono, cólicas gastrointestinais, dispepsias hipossecretoras, disquinesias hepatobiliares e enxaquecas (ZANOLI e ZAVATTI, 2008). Além disso, estudos feitos em 2018 também apontaram atividade anticancerígena através das propriedades farmacológicas potenciais e os efeitos quimiopreventivos ou terapêuticos apresentadas pelo Xantohumol (Xn; 3'-[3,3-dimetilalil]-2',4',4'-trihidroxi-6'-metoxicalcona), um flavonóide prenilado presente na planta, sendo considerado o mais abundante (JIANG *et al.*, 2018).

Os maiores produtores de lúpulo do mundo são os Estados Unidos (48.191 toneladas) e a Alemanha (41.556 toneladas). Esses países serem considerados os principais produtores dessa planta se deve ao fato de suas condições climáticas serem adequadas para o cultivo da mesma, possuindo solos argilosos ou arenosos profundos e de fácil drenagem, pois as raízes da planta podem atingir mais de 2 m de profundidade, além disso, alta exposição à luz durante o crescimento da planta e clima frio. Por se tratar desse tipo de solo e clima, seria provável que no Brasil esse cultivo não seria possível, porém, existem algumas cidades do sul, sudeste, norte e nordeste do país que conseguiram esse diferencial, sendo a maioria do lúpulo plantado de variedades americanas e alemãs. Dessa forma, estudos com o lúpulo estão em andamento no Brasil com grandes expectativas para o futuro, o que originou uma variedade adaptada ao clima brasileiro (DURELLO, 2019).

3.7.1. *Compostos Químicos*

Os seres vivos possuem a capacidade de realizar um conjunto de reações químicas chamadas de atividade metabólica. Dessa forma, a fim de manter o equilíbrio do sistema celular, todas as plantas apresentam substâncias ativas capazes de catalisar enzimas que podem produzir energia (ROCHA *et al.*, 2015).

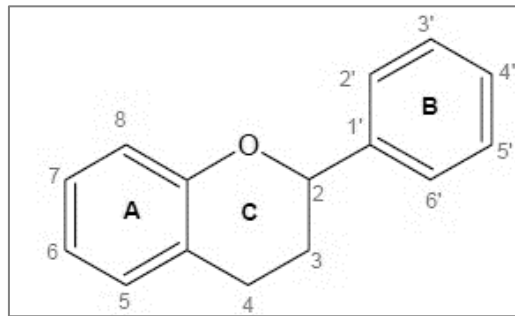
Os metabólitos primários são indispensáveis para planta, pois, estão envolvidos no crescimento, divisão celular, armazenamento, respiração e reprodução. Nesse grupo pode-se incluir: ácidos graxos, aminoácidos, açúcares, lipídeos, nucleotídeos, proteínas e polissacarídeos. Os metabólitos secundários são derivados de metabólitos primários, que através de vários sinais de proteção e estresses bióticos e abióticos, conseguem formar compostos orgânicos que possuem atividade biológica. As principais classes de metabólitos secundários identificados em espécies vegetais são os terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados (GARCÍA e CARRIL, 2009).

As plantas são capazes de produzir diversos produtos secundários que contêm um grupo fenol, ou seja, um grupo hidroxila funcional em um anel aromático. Podem ser sintetizados por duas vias metabólicas, a via do ácido chiquímico e via ácido mevalônico (LIMA NETO, 2015).

Os compostos fenólicos de plantas podem ser divididos em: fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas. Esses conseguem ter atividade antioxidante, através da neutralização de radicais livres e quelação de metais de transição. Nesse sentido, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção nos últimos anos a fim de proporcionar produtos naturais com atividade antioxidante, podendo substituir ou associar aos sintéticos. Também se destaca a capacidade de alguns compostos fenólicos contra defesa de herbívoros e patógenos e fortalecimento das paredes celulares. (ÖZEKER, 1999; SOUSA, *et al.*, 2007).

Os flavonoides são gerados a partir da fenilalanina pela via dos fenilpropanóides, sendo o maior grupo de compostos fenólicos naturais encontrados na natureza. A estrutura molecular dos flavonoides consiste em um esqueleto de carbono difenilpropano (C6-C3-C6) no qual dois anéis aromáticos estão ligados por meio de uma cadeia de três carbonos, baseada no núcleo de dois anéis benzênicos, A e B, ligados a um anel pirano, C. O primeiro anel benzeno (anel A) é constituído pelo sexto carbono do terceiro anel (anel C), que por sua vez, possui na posição 2 um grupo fenil como substituinte (anel B) (DONG; LIN, 2021).

Figura 2. Fórmula estrutural dos Flavonoides



Através da variação no anel C heterocíclico, os flavonóides podem ser classificados como chalconas, auronas, flavanonas, flavonas, isoflavonas, diidroflavonóis, flavonóis, leucoantocianidinas, antocianidinas e flavan-3-óis (NAKAYAMA *et al.*, 2019).

Os flavonoides possuem ação antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, antialérgica, antiviral, entre outras. A ação antioxidante explica sua proteção contra processos oxidativos, protegendo a planta contra estresses bióticos e abióticos (proteção solar, proteção contra patógenos e estresse ao clima). Esses compostos também são atrativos importantes para polinizadores e dispersores de sementes, além de serem usados para indústria alimentícia como pigmentos comestíveis e reguladores de sabor (IWASHINA, 2003).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Formular uma base de protetor solar natural e incorporar o extrato da folha de *H. lupulus*.

4.2. Objetivos específicos

- Elaboração de formulação para incorporação do extrato da folha de *H. lupulus*;
- Avaliar parâmetros físico-químicos da formulação;
- Avaliar o Fator de Proteção (FPS) da formulação;
- Avaliar o potencial antioxidante e a citotoxicidade da formulação;
- Avaliar a estabilidade da formulação.

5. METODOLOGIA

5.1. Avaliação da absorção na região do UV

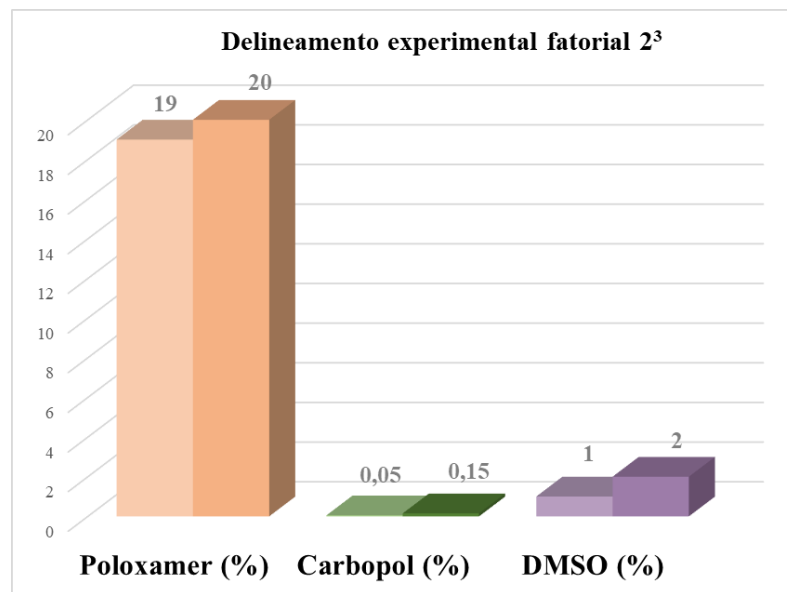
Tal projeto se baseia como uma continuação e complemento do trabalho de Jéssica Silva Sampaio (2022), na qual possui o seguinte título “Análise do potencial fotoprotetor dos extratos de *Humulus lupulus* e formulação de protetor solar de amplo espectro”. Nesse estudo, através do material vegetal da espécie *Humulus lupulus* foi obtido o Extrato Etanólico Bruto, na qual foi fracionado para obtenção das seguintes frações: Hidrometanólica, Hexânica, Clorofórmica e Butanólica. Dessa forma, foi realizada a caracterização fitoquímica dos extratos através da obtenção do teor dos compostos fenólicos totais e o teor dos flavonóides totais através da absorbância adquirida. Assim, foi possível realizar a avaliação da absorção na região do UV do extrato bruto e das frações nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,2 e 0,5 mg/mL, na qual foram solubilizadas em álcool etílico absoluto. Em seguida, foram medidas em um espectrofotômetro UV-Vis para avaliar a absorção na região de UVA e UVB, com medidas em intervalos de 5 em 5 nm (nanômetros) entre 260 a 400 nm, na qual tiveram leitura fixa de 290, 295, 300, 305, 310, 315 e 320 nm (PINHO *et al.*, 2014). Assim, a partir dos resultados obtidos para os diferentes extratos de concentração 0,2 mg/mL após a leitura nos comprimentos de onda 290, 295, 300, 305, 310, 315 e 320 foi realizado o cálculo do valor de FPS para os extratos a partir da metodologia de Mansur.

5.2. Obtenção das formulações pelo delineamento experimental fatorial

O delineamento experimental fatorial 2^3 foi realizado utilizando três variáveis diferentes com a variação de dois níveis, sendo eles: mínimo (-) e máximo (+). Como observado nas tabelas abaixo, o dimetilsulfóxido (DMSO) (DINÂMICA®), o poloxamer 407 (SIGMA-ALDRICH®) e a suspensão aquosa de acrilato (CARBOPOL® ULTREZ 21) preparada a 1%, foram utilizados com concentrações variadas. Todavia, foram mantidas as concentrações de extrato etanólico bruto em 5% e PEG 400 (SYNTH®) em 2%. Dessa forma, foram preparadas 8 formulações diferentes para o desenvolvimento do protetor solar, através de um delineamento experimental fatorial de 2^3 com variação de dois níveis mínimo (-) e máximo (+), sendo possível observar na Tabela 3.

Tabela 2. Delineamento experimental fatorial 2^3 para as formulações do hidrogel.

FATORES	NÍVEIS	
	Mínimo (-)	Máximo (+)
Poloxamer (%)	19	20
Carbopol (%)	0,05	0,15
DMSO (%)	1	2

Figura 3. Delineamento experimental fatorial 2^3 para as formulações do hidrogel.**Tabela 3.** Delineamento experimental fatorial 2^3 da composição das formulações de hidrogel.

Formulação	Extrato Etanólico Bruto (%)	PEG400 (%)	DMSO (%)	Poloxamer (%)	Carbopol (%)	
1	5	2	1	19	0,05	
2				20	0,15	
3				19	0,05	
4				20	0,15	
5		2	2	2	19	0,05
6					20	0,15
7					19	0,05
8					20	0,15

Os materiais utilizados para a obtenção das 8 formulações foram os seguintes: Dimetilsulfóxido (DMSO) (DINÂMICA®); Poloxamer 407 (SIGMA-ALDRICH®); Suspensão aquosa de acrilato (CARBOPOL® ULTREZ 21) preparado em 1%; PEG 400 (SYNTH®); Extrato etanólico bruto; Acetona P.A; Álcool etílico absoluto; Água destilada.

Assim, inicialmente cada uma foi preparada com extrato etanólico bruto + PEG 400 + Poloxamer + DMSO com concentrações específicas de cada formulação. Em seguida, para que o material fosse totalmente solubilizado, adicionou-se álcool etílico absoluto e acetona P.A. Os solventes foram completamente evaporados pelo dessecador até completa secagem e formação do filme polimérico. Para o desenvolvimento do gel, o filme polimérico foi ressuscitado em água destilada e carbopol por um banho de gelo (necessário para solubilização do poloxamer) até ser observada uma dispersão homogênea. O pH foi neutralizado com aminometil propanol (AMP95) e as formulações permaneceram armazenadas em geladeira ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) por 30 dias.

5.3. Caracterização físico-química e otimização das formulações

Foram obtidas oito formulações a partir do delineamento experimental, e suas características físico-químicas foram avaliadas em um Zetasizer (PN3702), através da análise do potencial zeta, tamanho das partículas e índice de polidispersão (IPD). Utilizou-se o aparelho Zetasizer nos tempos de 24 horas e 7 dias. Assim, as formulações foram colocadas em uma célula eletroforética, e os elétrodos das cubetas de quartzo detectaram a diferença de potencial. Foi posicionado em ângulo fixo de 173° com uma temperatura constante de 25°C (LEMOS, 2017). Todas as análises foram realizadas em triplicata e dados foram registrados no software Zetasizer, sendo expressos como a média \pm desvio padrão (REGISTRE, 2020).

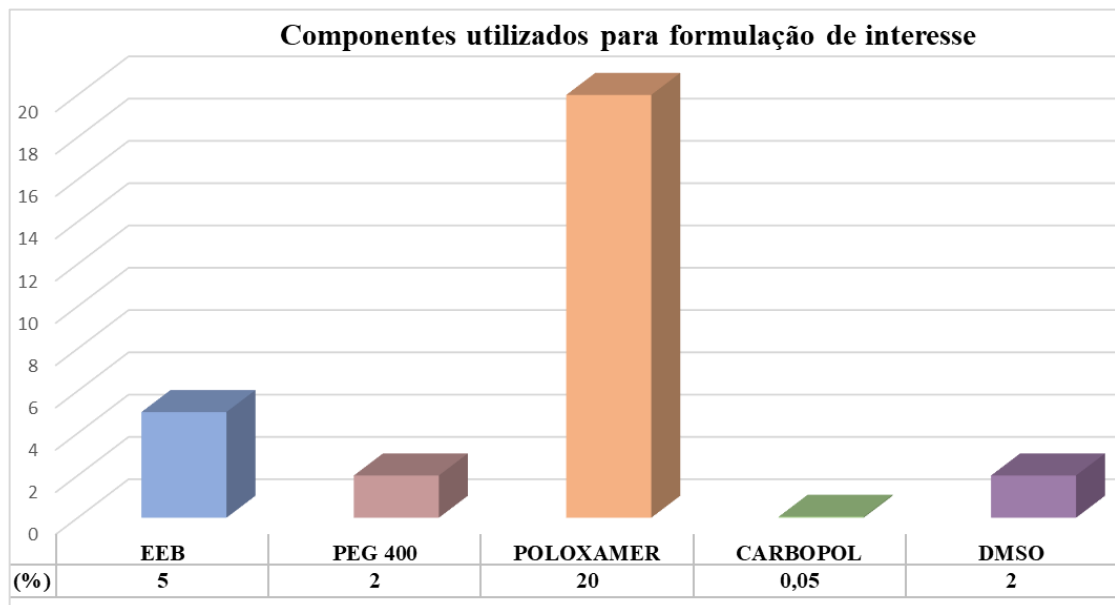
Já com o auxílio do software Minitab® foram obtidos a otimização da formulação com elaboração de gráficos de superfície, possibilitando uma melhor análise do comportamento das formulações frente às alterações na composição. Dessa forma, foi possível observar a relação de tamanho de partícula com as concentrações de poloxamer, DMSO e carbopol. Assim, foi analisado qual formulação teria o menor tamanho de partícula ($< 200\text{ nm}$) e índice de polidispersão ($< 0,5$).

Além disso, para avaliar o impacto do carbopol, uma formulação foi preparada a partir do extrato etanólico bruto: sem carbopol, brancos da formulação contendo 0,05% e 0,15% de carbopol e soluções aquosas contendo 0,05% e 0,15% de carbopol.

5.4. Obtenção da formulação de interesse

Através das análises com o EEB e suas frações, foi possível observar que a fração butanólica foi a que se destacou com as melhores condições para o desenvolvimento da formulação. Assim, a partir dos testes físico-químicos das formulações realizados pelo software Minitab® foi selecionada a formulação que obteve o tamanho de partícula menor do que 200nm e índice de polidispersão menor do que 0,5. Dessa forma, a formulação de número 7 foi selecionada com as seguintes características:

Figura 4. Componentes utilizados para formulação de interesse de número 7 representados em porcentagem.



Essa formulação selecionada através do delineamento experimental foi repetida nas mesmas condições para a fração butanólica. Em seguida, foram obtidos os resultados de tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta para os tempos de 24 horas e 7 dias.

5.5. Teste de centrifugação

Antes de iniciar os estudos de estabilidade, recomenda-se submeter o produto ao teste de centrifugação. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a centrifugação promove estresse na amostra, simulando aumento na força da gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis sinais de instabilidade, como

precipitação, separação de fases, formação de caking e coalescência. Sendo assim, durante 30 minutos, as formulações de extrato etanólico bruto e fração butanólica foram centrifugadas a uma velocidade de 3.000 rpm. O teste foi realizado 15 dias após o preparo da formulação de interesse. A ocorrência de instabilidade é indicativa da necessidade de reformulação (BRASIL, 2004).

5.6. Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS)

O método Fator de Proteção Solar (FPS) é usado com a intenção de conquistar uma segurança, padrão e controle nos filtros, assim, seu intuito é utilizar procedimentos que assegurem a absorção do filtro no comprimento de onda do UV necessário para proteção solar. (MANSUR *et al.*, 1986). Também conhecido por método de Mansur, o método de FPS foi inicialmente desenvolvido por Sayre e colaboradores em 1979. Dessa forma, foi avaliado o FPS em espectrofotômetro UV-Visível (THERMO SCIENTIFIC) usando-se: soluções diluídas da formulação, filtro solar Cetaphil® Sun spray loção lipossomal de FPS 30 (padrão) e o etanol a 92,6° GL (branco e diluente). O padrão de filtro solar foi preparado na concentração de 2,0 mg/mL em etanol a 92,6° GL. As amostras foram preparadas inicialmente em solução estoque para uma concentração de 4,0 mg/mL, também solubilizadas em etanol. Assim, foi realizada uma diluição através da solução estoque, obtendo uma concentração de 2,0 mg/mL. Dessa forma, foram realizadas as leituras de absorbância na faixa de 260 a 400 nm em um espectrofotômetro, utilizando-se uma cubeta de 1cm de caminho óptico. Em seguida, a partir dos resultados obtidos foi utilizado o cálculo para FPS. No cálculo do FPS é utilizado uma equação matemática, na qual foi desenvolvida por Mansur e colaboradores (1986), onde utiliza a absorbância ao invés da transmitância, como vista abaixo:

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

FC = fator de correção (igual a 10);

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

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

Abs (λ) = leitura espectrofotométrica da absorbância da solução da amostra no comprimento de onda (λ);

Ponderação na qual é empregada por espectrofotometria em comprimento de onda, onde:

Tabela 4. Relação do EE x I para os comprimentos de onda de 290 a 320nm.

Comprimento de onda (nm)	EE x I (normalizado) Valores relativos
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
TOTAL	1,0000

Adaptado de SAYRE *et al.*, 1979.

5.7. Razão UVA/UVB

Na determinação do FPS e da razão UVA/UVB usou-se espectrofotômetro realizando varredura das absorvâncias nos comprimentos de onda de UVA (320 – 400 nm) e UVB (290 – 320 nm), com intervalos de 1nm, sendo usado a concentração de 2,0 mg/mL como o usado para avaliação de FPS (SILVA, 2015).

Dessa forma, foram calculados os FPS para a concentração de 2,0 mg/mL, conforme feito por Mansur (1986) e, em seguida, a razão das áreas sob a curva UVA em relação a curva UVB (Springsteen *et al.*, 1999). Utilizou-se o software Graphpad Prism[®] para calcular a razão UVA/UVB, e, assim realizou-se a classificação segundo o Sistema Boot's Star Racing.

$$\frac{UVA}{UVB} = \frac{\int_{320m}^{400m} A\lambda \cdot d\lambda}{\int_{290m}^{320m} A\lambda \cdot d\lambda}$$

Tabela 5. Sistema Boot's Star Rating relacionado a razão UVA/UVB.

Razão UVA	Estrelas	Descrição
0,0 até < 0,2	-	Muito baixa
0,2 até < 0,4	*	Moderada
0,4 até < 0,6	**	Boa
0,6 até < 0,8	***	Superior

0,8 até < 0,9	****	Máxima
≥ 0,9	*****	Ultra

* Descrição da relação da razão UVA (proteção a esta radiação) com a quantidade de estrelas.

5.8. Avaliação do potencial antioxidante do extrato e formulações

Radicais livres tem sido de grande valor na pesquisa sobre propriedades antioxidantes, e isso se deve ao fato de causar problemas de saúde em humanos, como impacto no sistema imunológico e envelhecimento. Na determinação da atividade antioxidante do extrato etanólico bruto, fração butanólica e suas respectivas formulações foi utilizado os métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico).

5.8.1. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

A capacidade sequestrar radicais livres foi avaliada pelo método fotolorimétrico *in vitro* do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), de acordo com SOUSA *et al.*, 2007. Foi utilizado o solvente metanol para obtenção de solução estoque de rutina na concentração de 12 µg/mL. Além disso, como solução estoque das amostras foi usado uma concentração de 120 µg/mL para o extrato bruto, fração butanólica e formulações. Utilizando um balão volumétrico foi preparada uma solução de DPPH de 0,004% p/v.

Alíquotas da solução do padrão foram transferidas para uma placa de 96 poços, a fim de se obter concentrações finais de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 µg/mL. Já para extrato etanólico bruto foi utilizado as concentrações: 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 25,0; 30,0; 35,0; 40,0; 45,0; 70,0 µg/mL. Por fim, as soluções de fração e formulação butanólica foram usadas nas concentrações de 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0; 35,0 µg/mL, devido a sua maior coloração e influência na absorbância. O branco foi feito adicionando-se 100 µL de metanol. A placa foi incubada por 30 min, ao abrigo de luz e foi realizada a leitura das absorbâncias a 490 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata. A capacidade de inibição do radical DPPH foi calculada a partir da equação abaixo:

$$CI \text{ (Concentração Inibitória)} = [(Abs_{\text{Controle}} - Abs_{\text{Amostra}}) / Abs_{\text{Controle}}] \times 100$$

Abs_{Controle} = absorbância do controle;

Abs_{Amostra} = absorbância das amostras e do padrão;

Assim, os resultados foram expressos em concentração inibitória (IC50). IC50 se refere a mínima concentração necessária de antioxidante para inibir 50% de uma determinada concentração de radical DPPH.

5.8.2. ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

A capacidade de sequestrar radicais livres também foi avaliada pelo método fotolorimétrico *in vitro* do radical livre ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), de acordo com LI *et al.*, 2009, com modificações.

Na capacidade sequestrante do ABTS, é necessário o preparo do radical ABTS com 12 horas de antecedência ao abrigo de luz, sendo efetuada uma mistura a partir de 5,0 mL de sal de ABTS (7,4 mmol/L) e 5,0 mL de persulfato de potássio (K₈O₂H₈) (2,6 mmol/L), em água.

Após esse tempo, a solução foi diluída com metanol para obter absorvância de $0,70 \pm 0,02$ a 650 nm. Usando metanol, as soluções estoques do padrão rotina foram obtidas com concentrações de 15 e 45 µg/mL, a fim de obter alíquotas para placa de 96 poços com as seguintes concentrações: 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 3,75 e 4,5 µg/mL. Foram preparadas soluções estoque do extrato etanólico bruto e formulações nas concentrações de 12,5; 75 e 300 µg/mL para a obtenção das concentrações 0,5; 1,0; 1,25; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0; 20,0; 30,0; 40,0 e 60,0 µg/mL. Foi adicionado 120 µL da solução ABTS, sendo que o volume final do branco foi preparado para 120 µL de metanol. A placa foi incubada por 6 min, ao abrigo de luz e a leitura das absorvâncias foi realizada a 650 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata. A capacidade de inibição do radical ABTS foi calculada a partir da equação abaixo:

$$\text{CI (Concentração Inibitória)} = [(\text{Abs}_{\text{Controle}} - \text{Abs}_{\text{Amostra}}) / \text{Abs}_{\text{Controle}}] \times 100$$

Abs_{Controle} = absorvância do controle;

Abs_{Amostra} = absorvância das amostras e do padrão;

Assim, os resultados foram expressos em concentração inibitória (IC50). Sendo que IC50 se refere a mínima concentração necessária de antioxidante para inibir 50% de uma determinada concentração de radical ABTS.

5.9. Avaliação da citotoxicidade do extrato e formulações

A citotoxicidade do extrato bruto, fração butanólica e formulações preparadas foram avaliadas em teste *in vitro* com fibroblastos murinos, conhecidos como L929. Os fibroblastos são os maiores constituintes do tecido conjuntivo, além disso, são consideradas um modelo de células utilizados em ensaios de citotoxicidade devido ao seu rápido e fácil crescimento. Nesse sentido, os fibroblastos são grandes produtores de colágeno, elastina, glicosaminoglicanas e glicoproteínas, além de serem o tipo de célula mais presentes no ligamento periodontal e participarem da reparação tecidual. Para pesquisas de citotoxicidade pode-se utilizar células de murinos ou de humanos, pois apresentam comportamento singular (FARIAS, 2014).

Os ensaios colorimétricos de viabilidade celular se destacam como ferramentas no estudo da atividade de células eucarióticas. Existem diversos tipos de ensaios colorimétricos, dentre os quais pode-se citar o método SRB. No método SRB (sulforrodamina B), o corante é uma aminoxantina de cor rosa brilhante, que possui dois grupos sulfônicos capazes de se ligar a componentes protéicos das células, fixadas pelo ácido tricloroacético (SKEHAN et al., 1990).

Os fibroblastos foram cultivados e mantidos em estufa 37°C (5% de CO₂) por 48hr ou até alcançar no mínimo 80% do seu crescimento celular. O meio utilizado foi: RPMI 1640 (Sigma®) + 10% soro fetal bovino (Vitrocell®) + gentamicina a 60 µg/L com pH 7,22. O monitoramento foi feito pelas 48hr, e dado esse tempo para o crescimento celular, foi preparada a solução estoque com concentração 5 x 10⁵ de células/mL em meio RPMI com fenol. Em seguida, o meio foi retirado e as células foram raspadas com suporte plástico (cell scraper). Para realização da solução estoque, foi necessário 20 mL do meio RPMI completo e utilizou-se centrífuga a 1300rpm por 7 minutos. Após fim da centrifugação, o sobrenadante foi descartado, adicionou-se mais 20mL do meio RPMI, e posterior manuseio com vórtex. Assim, uma diluição (20x) em meio RPMI com fenol completo foi realizada. Para tal foi necessário adicionar 10 µL de uma alíquota na câmara de Newbauer. Para o plaqueamento, em cada placa de cultura de 96 poços com fundo chato, para uma solução de 5x10⁵ células/mL foram pipetadas 100 µL, na qual foram mantidas em estufa por 24hr para que os fibroblastos pudessem aderir no fundo dos poços e obter uma adesão total. Dessa forma, o meio foi retirado e as placas foram lavadas com RPMI sem fenol completo.

Para facilitar a solubilização das formulações e do extrato, no preparo foi utilizado o meio RPMI com 10% de DMSO, sendo preparadas em triplicata com 100 µL das amostras em concentrações de 50 a 0,08 mg/mL, incubadas por 24 hr, 48hr e 72hr. Após o monitoramento no tempo estabelecido de incubação, o meio foi removido, os poços foram lavados com PBS e

as células foram fixadas por ácido tricloroacético a 20%, por 1 hora a temperatura de 4°C. Após essa etapa, foi utilizado água destilada para lavar as placas e foi realizada a secagem das mesmas.

O corante SRB 0,1% em ácido acético a 1% foi utilizado para corar as células fixadas. Esperou-se 30 minutos para completa coloração das células. Em seguida, foram lavadas com ácido acético 1%. Após a secagem das placas, o corante foi solubilizado com a solução TRIS 10 mM (pH 10,5). Tal etapa foi realizada protegida contra luz para estabilidade ser mantida. A leitura foi realizada em 490 nm de comprimento de onda em leitor de microplacas (MOLECULAR DEVICES®, SPECTRA MAX). Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da viabilidade celular (SKEHAN *et al.*, 1990), sendo calculada na fórmula:

$$\% \text{ da viabilidade celular} = 100 - \left\{ \frac{(\text{Abs}_{\text{Controle}} - \text{Abs}_{\text{Amostra}})}{\text{Abs}_{\text{Controle}}} \times 100 \right\}$$

5.10. Avaliação da temperatura de gelificação

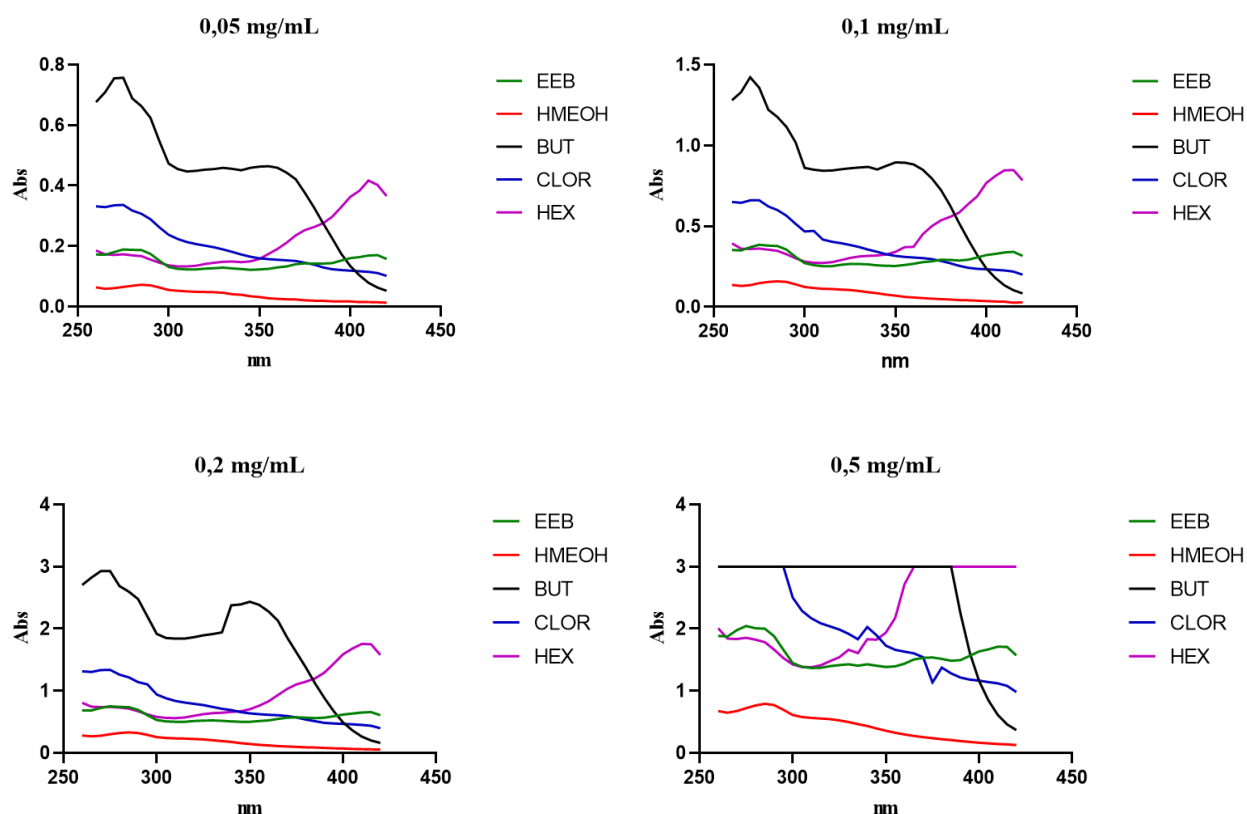
A Avaliação da temperatura de gelificação foi realizada através do Reômetro de Brookfield® DV-III Ultra, utilizando Cone Plate (CP-52) equipado com cilindros concêntricos, variando RPM de 0-100 com intervalo de 20 segundos para mudança de velocidade. Foram usadas 0,5mL de formulação em triplicata, tendo variação de temperatura de 8 a 20°C, com intervalos de 4°C. O objetivo foi verificar o aumento da viscosidade em função da temperatura (SILVA, 2017).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Avaliação da absorção na região do UV

Os resultados de absorção medidos no espectrofotômetro UV-Vis para avaliar a absorção na região de UVA e UVB foram realizados em intervalos de 5 em 5 nm (nanômetros) entre 260 a 400 nm em diferentes concentrações. Sendo assim, os que absorvem no comprimento de ondas compreendido entre 290 a 320 nm situa-se a radiação solar UVB e os que tendem em absorver entre 320 a 400 nm estão na faixa da radiação solar do UVA (VIOLANTE *et al.*, 2009). As absorções de cada extrato referentes em concentrações de 0,05, 01, 0,2 e 0,5 mg/mL podem ser observadas nos gráficos abaixo:

Figura 5. Avaliação da absorção na região do UV dos extratos.



EEB (Extrato Etanólico Bruto); HMEOH (Fração Hidrometanólica); BUT (Fração Butanólica); CLOR (Fração Clorofórmica); HEX (Fração Hexânica). Fonte: SAMPAIO (2022).

De modo geral, ao analisar os gráficos é nítido observar que houve uma absorção de amplo espectro (contra raios UVA e UVB). Nesse sentido, pode-se levar em consideração o

que é previsto por Bobin *et al.* (1994), onde afirma que o espectro de absorção dos flavonoides quando dispersos em etanol e metanol mostra-se com dois picos, sendo um presente entre 240 a 280 nm e o outro nos comprimentos de 300 a 500 nm.

Mesmo com resultados satisfatórios de absorção, pode-se destacar que o extrato etanólico bruto, a fração hidrometanólica e a fração clorofórmica, obtiveram um decaimento de absorbância no UVA em relação ao UVB. Todavia, a fração hexânica demonstrou um pico de absorção em todos os gráficos das concentrações existentes ao final da faixa da região UVA, sendo uma condição de grande interesse ao mercado que necessita de bons filtros absorvedores de radiação UVA (LUZIN, 2018). Também pode-se dizer que a fração hexânica continua com uma absorção na região visível, podendo ser interessante o seu uso em filtros orgânicos, já que os disponíveis atualmente oferecem proteção muito limitada contra a luz visível (SCKALKA *et al.*, 2012). Além disso, algo que seria muito interessante seria uma possível associação entre as frações hexânica e a butanólica, podendo oferecer um produto com amplo espectro.

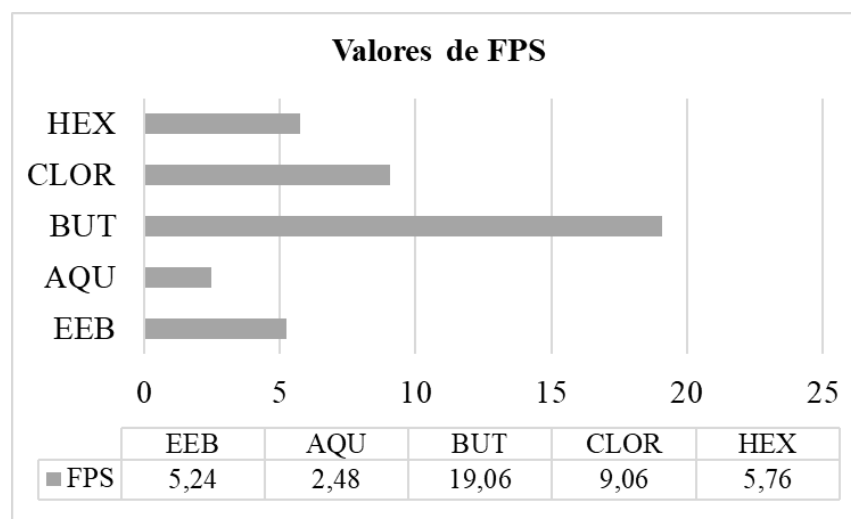
Também pode-se observar que a fração de maior absorção na região do UV foi a butanólica, sendo assim, a fração de maior interesse para incorporação na formulação do protetor solar. Tal característica já era prevista, visto que nos testes realizados anteriormente, a fração butanólica obteve o maior teor de compostos fenólicos e flavonoides. Os flavonoides são metabólitos secundários presentes nas plantas e considerados protetores solares naturais, pois possuem a propriedade de absorver a luz na região do ultravioleta. Nesse sentido, outro estudo também revelou presença de flavonóides que se mostraram promissores para uso em produtos de proteção solar, porém com extratos etanólicos das folhas de *Aniba canelilla* (Kunth) (FONSECA *et al.*, 2015).

Mesmo que os métodos *in vivo* serem indicados para determinação do FPS pela maioria das agências regulatórias mundiais, eles envolvem questões éticas pela utilização de voluntários, além de serem demorados e caros. Como alternativa, tem-se os métodos de determinação de FPS *in vitro*. Em 1984, Mansur propôs o método *in vitro* utilizando espectrofotômetro para a determinação do FPS dos produtos. Tal método fundamenta-se na absorbância na concentração de 0,2 mg/mL com leitura na faixa de 290 a 320nm a intervalos de 5nm, como já realizada anteriormente (MANSUR *et al.*, 1984). Os valores encontrados de FPS são demonstrados na tabela e gráfico a seguir:

Tabela 6. Valores de FPS do Extrato Etanólico Bruto (EEB), Fração Hidrometanólica (AQU), Fração Hexânica (HEX), Fração Clorofórmica (CLOR) e Fração Butanólica (BUT).

Extrato	FPS
EEB	5,24
AQU	2,48
BUT	19,06
CLOR	9,06
HEX	5,76

Figura 6. Valores de FPS do Extrato Etanólico Bruto (EEB), Fração Hidrometanólica (AQU), Fração Hexânica (HEX), Fração Clorofórmica (CLOR) e Fração Butanólica (BUT).



Foram obtidos valores de FPS considerados positivos para as frações butanólica e clorofórmica, pois apresentaram FPS maior do que 6. Porém, deve-se destacar que a butanólica obteve valor significativamente maior que as demais, sendo 19,06. Para o extrato bruto e a fração hidrometanólica os valores de FPS foram menores do que 6,0, não cumprindo um dos requisitos para serem considerados protetores solares. Segundo a RDC 30/2012, para ser classificado como protetor solar o produto precisa obrigatoriamente ter FPS de no mínimo 6,0, FPUVA cujo valor corresponda a, no mínimo, 1/3 do valor do FPS declarado na rotulagem e comprimento de onda crítico mínimo de 370 nm. Ainda segundo a RDC 30/2012, a categoria indicada no rótulo (DCP) da fração butanólica (valor mais alto de FPS encontrado no estudo) seria média proteção, sendo indicada para pele moderadamente sensível a queimadura solar (BRASIL, 2012).

Dessa forma, pode-se dizer que através da absorção de energia radiante atribuída aos grupos cromóforos que se demonstra a eficácia do filtro solar, ou atividade fotoprotetora (Bobin *et al.*, 1994). Um FPS baixo muitas vezes se deve ao fato da dificuldade da determinação da absorção máxima dos produtos vegetais, por serem uma mistura complexa de moléculas mais ou menos ativas. Assim, para muitos estudos como esse abortado, com o objetivo de ter resultados mais satisfatórios, opta-se o uso frações específicas do extrato (Santana *et al.*, 2001).

6.2. Obtenção das formulações pelo delineamento experimental fatorial

Após a produção das formulações produzidas através do delineamento experimental fatorial, foram realizadas observações pertinentes físico-químicas quanto a sua aparência, solubilização e separação de fases. Estas foram mantidas por 30 dias em geladeira com temperatura $\pm 4^{\circ}\text{C}$, onde seguiram com suas características mantidas durante o tempo de armazenamento.

Caracterizado como copolímero hidrossolúvel não iônico, utilizou-se para esse estudo o poloxamer em 5%, devido uso nessa concentração em outros projetos do grupo de pesquisa. Nesses estudos foi determinado uma solubilização máxima de 5% de extrato vegetal. Essa concentração foi escolhida com a solubilização completa através da utilização de duas vezes o volume final da formulação com álcool etílico absoluto 99,8% e acetona P.A. (proporção 1:1). Para obtenção do hidrogel, o solvente foi evaporado. A principal característica do poloxamer é a sua termo-reversibilidade. Em temperaturas abaixo de 25°C ele se apresenta numa fase líquida e, com o aquecimento consegue gelificar. Sua distribuição se refere em diferentes copolímeros, reunidos de acordo com seu estado físico. (Russo *et al.*, 2019).

Os hidrogéis estão sendo uma opção vantajosa no uso da cosmetologia, pois apresentam capacidade de armazenar e proteger substâncias biologicamente ativas contra os efeitos adversos do meio externo, além de possuírem fácil aplicação no tratamento de doenças da pele e minimização de efeitos colaterais. Eles possuem redes poliméricas tridimensionais, hidrofílicas, com propriedades de alto teor de água, maciez, flexibilidade e boa adesão a pele. Para o desenvolvimento de hidrogéis são utilizados polímeros hidrofílicos (MORA, 2022).

No estudo foi utilizado o polímero carbopol, sendo este sintético, aniônico, hidrofílico, produzido pela polimerização do ácido acrílico. Ele pode ser facilmente reticulado em hidrogéis com alta capacidade de intumescimento na forma neutra, dessa forma, tem sido usado pela indústria devido suas características como agente gelificante, espessante, emulsionante e suspensor. (Filip *et al.*, 2022). Além de ser solúvel em água, ele possui um coeficiente de

absorção e velocidade próximos da água, o que tende a absorver muitas vezes o seu peso em água, o que explica sua capacidade de produzir géis.

Os hidrogéis a base de PEG possuem alto conteúdo de água, o que explica seu grande fortalecimento em transporte de moléculas pequenas através do gel e possibilidade de imobilização de várias biomoléculas. Pode-se destacar outras características do PEG, como ser biocompatível, de degradação controlável, flexível, atóxico, e imunogênico, por apresentar capacidade adsorvente. Sendo assim, são eficazes nas aplicações farmacêuticas, biológicas e bioquímicas, principalmente na liberação controlada de drogas (SANTOS *et al.*, 2022).

Sendo um solvente atrópico e hidrocópico, o DMSO possui afinidade pela água devido sua ação como receptor de prótons em ligações de hidrogênio. O DMSO consegue penetrar facilmente na pele, não causando danos irreversíveis na membrana, além de diminuir o crescimento bacteriano e agir como relaxante muscular por inibição dos radicais livres (BATISTUZZO *et al.*, 2002).

6.3. Caracterização físico-química das formulações

O acompanhamento dos parâmetros de tamanho de partícula, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta, permitem avaliar possíveis ocorrências de fenômeno de instabilidade. O tamanho de partícula e o índice de polidispersão (IPD) são obtidos através do espalhamento de luz dinâmica (Dynamic Light Scattering - DLS), capaz de medir a velocidade das partículas submetidas ao movimento browniano. O movimento browniano é a movimentação de partículas que colidem umas com as outras, assim, quanto maior a velocidade das partículas, menor será o tamanho delas. Já o potencial zeta, é avaliado por meio da carga superficial das nanopartículas, sendo determinado por microeletroforese (Baldim *et al.*, 2019).

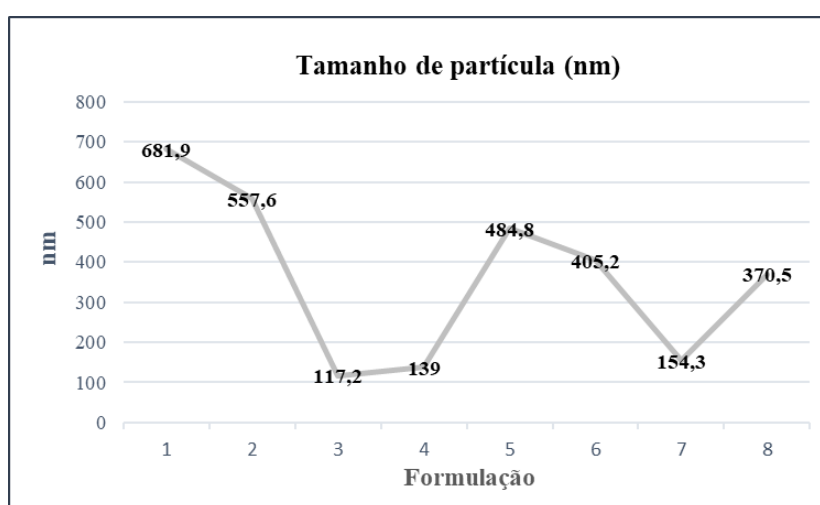
Vale destacar que foi utilizado o EEB (extrato etanólico bruto) no delineamento experimental fatorial 2^3 para escolha da formulação de hidrogel, mesmo que a fração butanólica tenha sido selecionada com melhores resultados. Isso foi necessário ao experimento devido ao baixo rendimento da fração butanólica (10,11%), visto que uma quantidade maior da mesma seria necessária para o experimento.

No Zetasizer Nanoseries foram encontrados nas 8 formulações os seguintes valores de tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta durante o tempo de 24 horas e 7 dias. Abaixo, na tabela 7 pode-se observar durante o tempo de 24 horas:

Tabela 7. Caracterização das 8 formulações no tempo de 24 horas.

Formulação	1	2	3	4	5	6	7	8
Tamanho de partícula (nm)	681,9 ± 9,582	557,6 ± 4,2	117,2 ± 0,4041	139 ± 16,97	484,8 ± 9,105	405,2 ± 4,957	154,3 ± 3,371	370,5 ± 1,311
Índice de polidispersão (IPD)	0,324 ± 0,046	0,370 ± 0,056	0,861 ± 0,003	0,53 ± 0,05	0,517 ± 0,014	0,579 ± 0,005	0,406 ± 0,038	0,461 ± 0,018
Potencial zeta (mv)	-15,0 ± 0,115	-14,4 ± 0,839	-27,3 ± 0,924	-22,4 ± 0,321	-17,3 ± 0,981	-15,6 ± 0,153	-20,4 ± 0,945	-15,7 ± 1,06

O gráfico abaixo mostra os valores do tamanho de partículas encontrados nas 8 formulações respectivamente:

Figura 7. Valores de tamanho de partículas encontrados nas 8 formulações obtidas pelo desenho experimental no tempo de 24 horas.

Através dos valores de tamanho de partícula observados no gráfico 7, é possível observar que os resultados obtiveram variações grandes entre as formulações. Sobretudo, os resultados obtidos tiveram valor mínimo em 117,2 nm para a formulação de número 3, e valor máximo de 681,9 nm para a formulação de número 1. A média entre os valores foi de 363,8 nm.

Para melhor observar a relação de tamanho de partícula com as concentrações de poloxamer, DMSO e carbopol foi usado o software Minitab®, onde foram elaborados os gráficos de superfície representados pelas Figuras 8, 9, 10 e 11 abaixo:

Figura 8. Gráfico de superfície que caracteriza o tamanho de partícula das formulações versus concentrações de DMSO e Poloxamer.

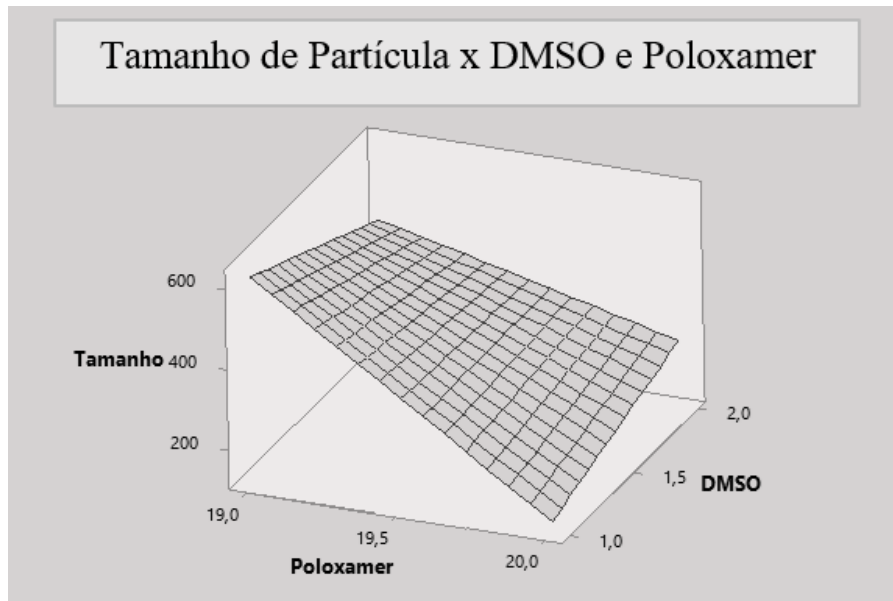
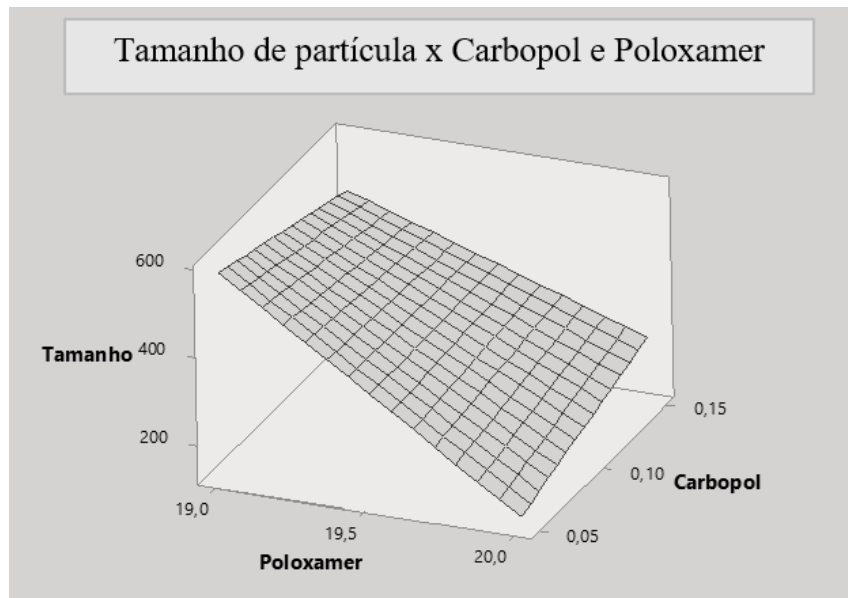


Figura 9. Gráfico de superfície que caracteriza o tamanho de partícula das formulações versus concentrações de Carbopol e Poloxamer.



Através dos dois gráficos de superfície 9 e 10 acima é possível observar o efeito do tamanho de partícula das formulações versus concentrações de Carbopol e Poloxamer. Ao observar os gráficos é possível concluir que para a obtenção de um menor tamanho de partícula

é necessário: maior concentração de poloxamer, menor concentração de DMSO e menor concentração de carbopol.

Vale destacar que o tamanho esperado de tamanho de partícula < 200 nm foi encontrado somente em formulações com concentração de 20% de poloxamer, sendo, respectivamente, as formulações de número 3 (117,2 nm), número 4 (139 nm) e número 7 (154,3nm). Formulações com tamanho das partículas reduzidos são parâmetros positivos, visto que assim é aumentado a área superficial, a solubilidade aparente e a velocidade de dissolução da substância pouco solúvel em água, o que garante um aumento da biodisponibilidade.

O poloxamer possui característica de ser um copolímero com propriedade de gelificação térmica inversa dependente da concentração e da temperatura. Estudos demonstram que o poloxamer 407 foi utilizado para melhorar a taxa de dissolução de vários fármacos, como atenolol (MONTI *et al.*, 2010). Dessa forma, sugere-se para esse estudo que possivelmente a presença do poloxamer proporcionou com que as partículas diminuíssem, visto que pode ter ajudado na homogeneidade do sistema.

Também foi possível observar o Índice de Polidispersão das formulações, como pode ser visto abaixo nos gráficos:

Figura 10. Gráfico de superfície que caracteriza o Índice de Polidispersão das formulações versus concentrações de DMSO e Poloxamer.

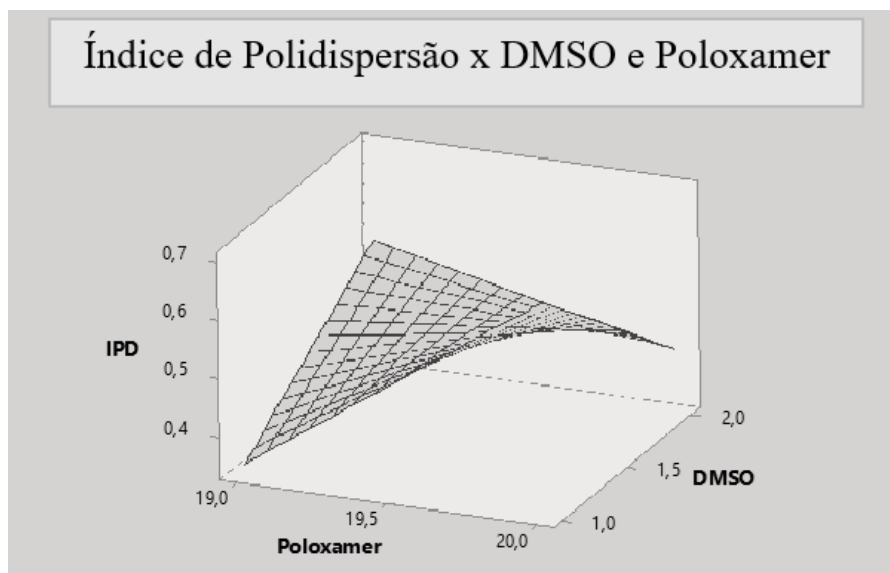
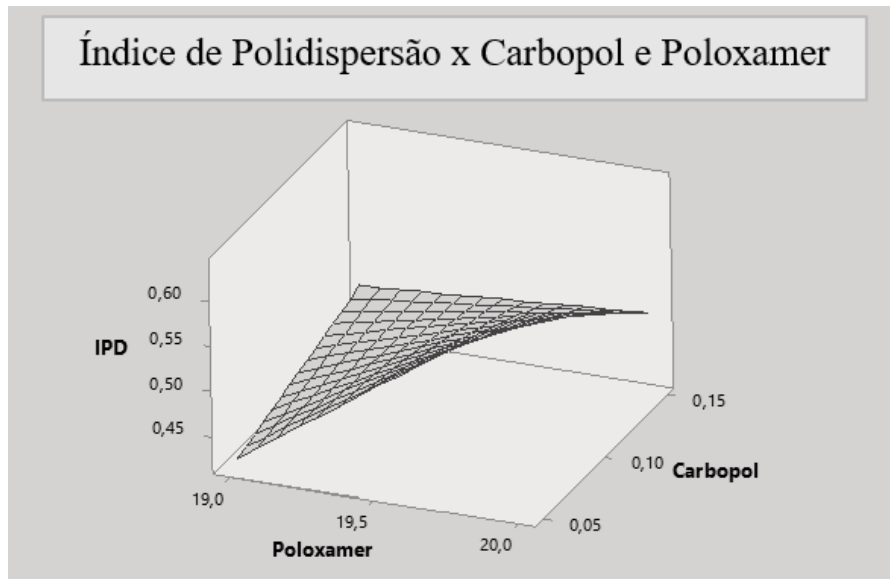


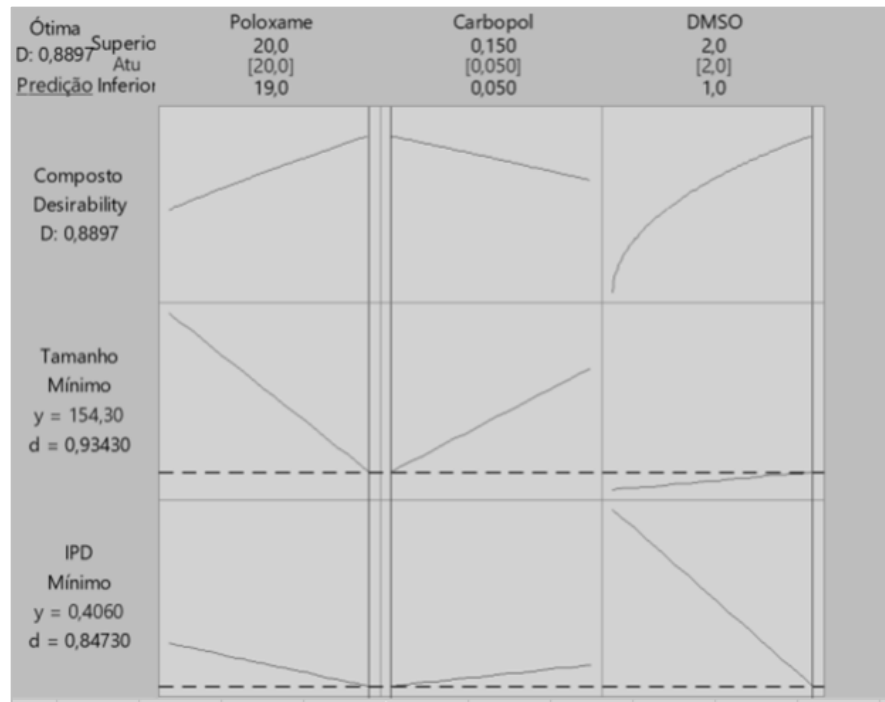
Figura 11. Gráfico de superfície que caracteriza o Índice de Polidispersão das formulações versus concentrações de Carbopol e Poloxamer.



Através dos gráficos das Figuras 10 e 11 acima foi possível observar que para a obtenção de um menor IPD é necessário: menor concentração de poloxamer, maior concentração de DMSO e maior de carbopol.

O índice de polidispersão (IPD) fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos, assim, quanto maior o valor obtido, maior será a estabilidade da amostra. Para a formação de um sistema monodisperso, o valor esperado de IPD para esse trabalho seria $<0,5$, porém, nem todas as formulações obtiveram valores nessa faixa.

Verificou-se uma variação de 0,861nm a 0,324 nm para o índice de polidispersão de 24 horas realizado para as 8 formulações. O resultado de maior valor (formulação 3) obtido para o índice de polidispersão, também foi o menor valor obtido para tamanho de partícula, conseqüentemente, o valor com menor índice de polidispersão (formulação 1) foi de maior valor para tamanho de partícula. Valores altos de IPD podem sugerir novas populações de partículas ou presença de agregação de partículas com diferentes tamanhos de partículas.

Figura 12. Gráfico de otimização do delineamento experimental.

O gráfico de otimização do delineamento experimental foi obtido através do software Minitab®. Através dos resultados obtidos das características de tamanho de partícula, IPD e potencial zeta, pôde-se selecionar a formulação com os melhores resultados de homogeneidade e estabilidade, com valores de tamanho de partícula <200 nm e IPD <0,5. A formulação número 7 possui as seguintes concentrações de seus componentes: 0,05% de Carbopol, 2% de DMSO e 20% de Poloxamer.

Tabela 8. Caracterização das 8 formulações no tempo de 7 dias.

Formulação	1	2	3	4	5	6	7	8
Tamanho de partícula (nm)	1199	1145	502,3	324,4	920,2	788,5	169,7	624,4
	±	±	±	±	±	±	±	±
	99,05	119,9	80,39	81,92	48,88	9,363	3,464	14,12
Índice de polidispersão (IPD)	0,242	0,27	0,722	0,626	0,416	0,46	0,384	0,456
	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,038	0,015	0,236	0,117	0,083	0,11	0,024	0,038
Potencial zeta (mV)	-16,8	-14,7	-26,3	-24,9	-18,3	-18,9	-19,9	-17,6
	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,07	0,289	2,19	1,82	0,802	1,88	3,04	0,306

No tempo de 7 dias observou-se nas formulações um aumento significativo no tamanho da partícula e no desvio padrão. Verificou-se entre as formulações uma variação de $1199 \pm 99,05$ nm a $169,7 \pm 3,464$ nm para o tamanho das partículas. O resultado de maior valor (formulação 1) obtido para o tamanho das partículas, também foi o menor valor obtido para IPD, conseqüentemente, seria a formulação mais instável, visto que no tempo de 24 horas também obteve os maiores valores.

O potencial zeta é conhecido como um potencial presente entre a superfície das partículas e do meio dispersante presente. Ele faz parte da análise de estabilidade de suspensões ou emulsões coloidais. Quanto maior o potencial zeta, mais provável que a suspensão coloidal possua boa estabilidade físico-química, pois grandes forças repulsivas tendem a evitar a agregação em função das colisões ocasionais de nanopartículas adjacentes. Já um potencial zeta com valores baixos podem indicar instabilidade coloidal que pode levar à agregação (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

Sabe-se que o potencial zeta é realizado com leitura em mV, e sua carga está relacionada com sua estabilidade, podendo ser positiva ou negativa. Assim, os valores que se encontrarem superiores a +30 mV ou inferiores a -30 mV são considerados estáveis. Entretanto, para valores acima de -30 mV e abaixo de +30 mV são considerados instáveis, pois pode ocorrer floculação (JOUDEH & LINKE, 2022).

Entre as formulações no tempo de 24 horas foi possível observar uma variação de $-14,4 \pm 0,839$ mV a $-27,3 \pm 0,924$ mV, todavia, para o tempo de 7 dias essa variação foi de $-14,7 \pm 0,289$ mV a $-26,3 \pm 2,19$ mV. Em comparação de todos os resultados encontrados no experimento no tempo de 24 horas e 7 dias, praticamente todas as formulações tiveram suas cargas negativas aumentadas. Sugere-se, que este aumento na superfície eletrostática das partículas possa ser consequência da adsorção de estruturas iônicas da suspensão ou da dissociação de grupamentos do polímero usado. Além disso, por estarem recobrando as partículas, o polímero e tensoativo são os constituintes que mais influenciam no potencial de superfície (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; FRANCO & BOCHI, 2013).

Suspeita-se que esse aumento da distribuição de tamanho das partículas no tempo de 7 dias seja devido a presença do fenômeno agregação de partículas. Nesse sentido, para avaliar o impacto do carbopol, foi realizada as seguintes formulações: extrato etanólico bruto sem carbopol, brancos da formulação com 0,05% e 0,15% de carbopol e soluções aquosas com 0,05% e 0,15% de carbopol.

Tabela 9. Impacto do carbopol em relação a formulação.

	Formulação EEB	Branco 0,05% carbopol	Branco 0,15% carbopol	Solução carbopol 0,05%	Solução carbopol 0,15%
Tamanho de partícula (nm)	144,6 ± 28,59	149,6 ± 83,85	456,8 ± 499,2	224,8 ± 40,85	664,1 ± 158,8
Índice de polidispersão (IPD)	0,372 ± 0,04	0,317 ± 0,043	0,571 ± 0,297	0,282 ± 0,055	0,615 ± 0,04
Potencial zeta (mV)	-16,2 ± 2,48	-16,8 ± 8,86	-28,7 ± 4,92	-28,8 ± 7,07	-26,7 ± 10,5

Através da tabela 9 é possível observar que o carbopol teve um grande impacto no tamanho de partícula das formulações. Isso sugere formação de agregação de partículas ou a interação que o carbopol tem com a cadeia polimérica do gel, resultando na diminuição da estabilidade da formulação. Isso se deve ao fato do carbopol ser um polímero com alto peso molecular, utilizado como espessante, agente de suspensão e estabilizador. Esses testes não foram feitos com a intenção de excluir o carbopol da formulação, visto que ele possui características importantes para a estabilidade da formulação. Além disso, ele é muito utilizado em géis por possuir capacidade de intumescimento e resistência a microorganismos (GIUSEPPE, E. Di *et al.*, 2015).

6.4. Obtenção da formulação de interesse

Através do software Minitab[®] foi selecionada a formulação de número 7, na qual o tamanho de partícula foi < 200 nm e índice de polidispersão < 0,5. Assim, tal formulação selecionada possui: Extrato Etanólico Bruto com 5%, PEG 400 com 2%, Poloxamer com 20%, Carbopol com 0,05% e DMSO com 2%.

Vale destacar que a formulação de número 7 foi a que obteve os valores mais uniformes em comparação dos tempos de 7 dias e 24 horas, visto que obteve o valor de tamanho de partícula com variação de 154,3 nm para 169,7 nm, enquanto o IPD variou de 0,406 nm para 0,384 nm. Além disso, também foi observado se comparado nos dois tempos, um potencial zeta com carga negativa diminuída, ou seja, maior valor das cargas, o que pode garantir um sistema

com uma provável estabilidade maior. Assim, partículas se repelem com mais força e impedem a formação de agregação (FRANCO & BOCHI, 2013).

A formulação selecionada a partir do delineamento experimental, foi repetida nas mesmas condições para extrato etanólico bruto e para a fração butanólica. Como visto anteriormente, a fração butanólica foi selecionada devido melhores condições nos testes, porém, não foi utilizada no delineamento experimental por razão do seu baixo rendimento. Nessas formulações também foram obtidos os resultados de tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta para os tempos de 24 horas e 7 dias, como pode ser observado na Tabela 10:

Tabela 10. Comparação das formulações EEB e BUT em caracterização físico-química nos tempos de 24 horas e 7 dias

	Formulação EEB		Formulação BUT	
	24 horas	7 dias	24 horas	7 dias
Tamanho de partícula (nm)	188,8 ± 20,81	325,8 ± 63,07	36,61 ± 9,142	37,28 ± 11,13
Índice de polidispersão (IPD)	0,437 ± 0,08	0,623 ± 0,081	0,198 ± 0,047	0,273 ± 0,085
Potencial zeta (mV)	-13,1 ± 1,95	-16,6 ± 0,862	- 13,3 ± 0,814	-13,6 ± 2,74

Observando a tabela 10, é possível destacar que houve um aumento significativo do tamanho de partícula e IPD da formulação com extrato etanólico bruto em comparação dos tempos de 24 horas e 7 dias. Esse aumento sugere que ocorreu agregação de partículas. Já a formulação butanólica, pode-se dizer não obteve aumento significativo nos valores de tamanho de partícula e IPD, garantindo um sistema sem agregações, além de uma boa homogeneidade e estabilidade.

Esse comportamento na diferença no tamanho de partícula entre as formulações de EEB e BUT já era esperado, pois, as duas formulações apresentam uma composição diferente em termos de metabólitos, já que o extrato bruto possui metabólitos apolares e de baixa polaridade, enquanto a fração butanólica apresenta metabólitos de média a alta polaridade.

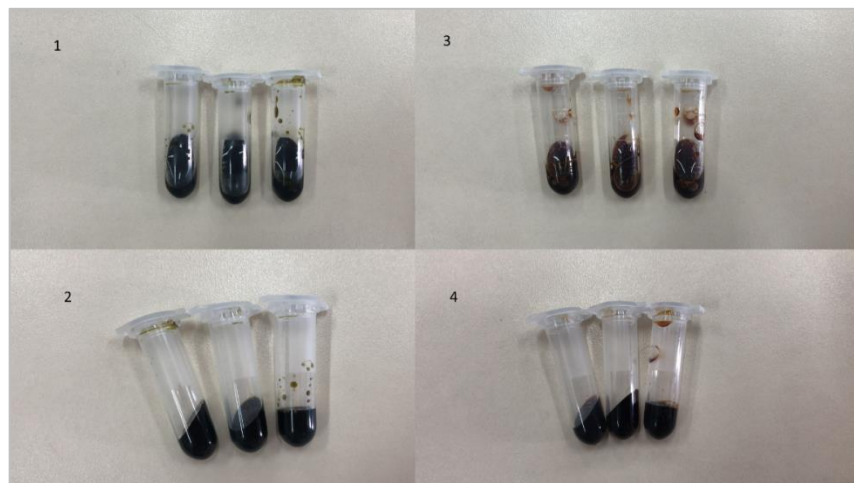
Já o potencial zeta, apesar de apresentar carga, é considerado ideal para a repulsão das partículas para evitar a agregação. Para ambas formulações não houve diferença significativa,

porém, na formulação butanólica a diferença entre os tempos foi menor. Nesse caso o potencial zeta não é tão crítico, visto que se tratando de uma formulação hidrogel, uma rede tridimensional de poloxamer, os valores encontrados são considerados característicos para a composição da formulação em questão.

6.5. Teste de centrifugação

A centrifugação foi realizada como análise preliminar, a fim de determinar qualquer sinal de instabilidade indicativa de necessidade de reformulação (BRASIL, 2004). Através da centrifugação das formulações a 3000 rpm por 30 minutos, o produto permaneceu estável e não houve sinal indicativo de instabilidade, como é possível visualizar na figura 13:

Figura 13. As imagens 1 e 3 retratam as formulações de extrato bruto e fração butanólica antes da centrifugação. As imagens 2 e 4 retratam as formulações de extrato bruto e fração butanólica após a análise de centrifugação. Fonte: SAMPAIO (2022).



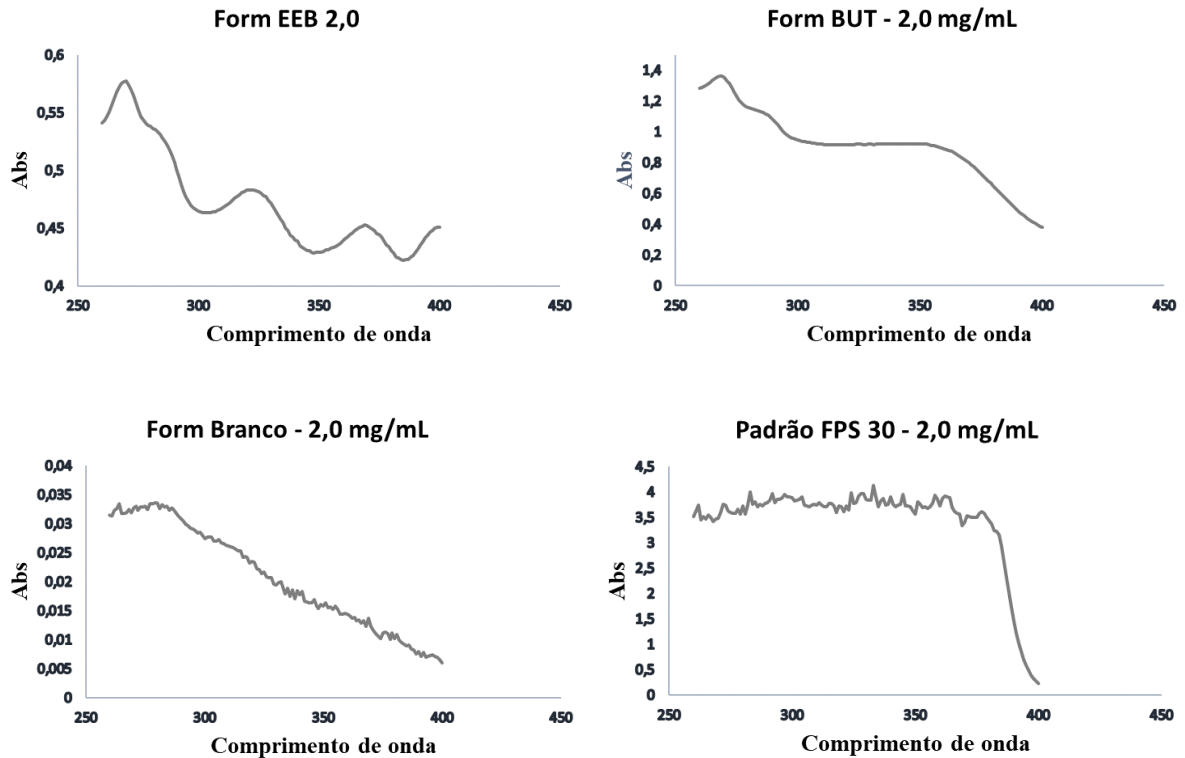
A Figura 13 apresenta o aspecto das amostras antes e após a realização do teste de centrifugação. Após o teste de centrifugação observou-se que as formulações, não apresentaram alteração em relação ao seu aspecto original. Dessa forma, foi possível observar que as amostras estiveram estáveis, sendo que não foram observadas oxidação, alteração de cor e precipitação. Vale destacar que gelificação foi observada, visto que o teste foi realizado em temperatura ambiente.

6.6. Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS)

Com a varredura de 260 a 400nm no espectrofotômetro com a formulação de extrato etanólico bruto, formulação da fração butanólica e padrão com a concentração de 2,0 mg/mL,

foi possível obter valores de absorção versus comprimento de onda, onde pode-se observar na figura 14:

Figura 14. Gráficos retratando as absorbâncias das formulações de extrato etanólico bruto, fração butanólica e padrão na concentração de 2,0 mg/mL no intervalo de comprimento de onda de 260 a 400 nm.



Ao analisar a figura 14 que retrata as absorbâncias das formulações, do padrão e do branco, é possível observar que a formulação butanólica absorveu significativamente mais do que a formulação de extrato etanólico bruto. Como já era esperado, a formulação branco não apresenta uma absorbância relevante, e o padrão obteve as maiores absorbâncias.

Através do método *in vitro* proposto por MANSUR *et al* (1986), o valor do FPS foi obtido com a fórmula matemática utilizando as absorbâncias da espectrofotometria, assim, foram encontrados os seguintes valores (Tabela 11):

Tabela 11. Valores de FPS encontrados para extrato etanólico bruto (EEB), fração butanólica (BUT), branco e padrão na concentração de 2,0 mg/mL

Formulação	FPS
EEB 2,0 mg/mL	4,68
BUT 2,0 mg/mL	9,38
Branco 2,0 mg/mL	0,27
Padrão 2,0 mg/mL	37,97

Sobre as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) da RDC 30/2012, para ser classificado como protetor solar o produto precisa obrigatoriamente ter FPS de no mínimo 6. Os valores de FPS mais comuns vão de 6,0 a 50,0, podendo chegar a 100,0 para casos específicos. Dessa forma, observando os valores obtidos de FPS na tabela acima, pode-se destacar que a formulação do extrato etanólico bruto não é considerada um protetor solar, pois não atingiu o FPS de 6. Já a fração butanólica, apesar de um FPS baixo, pode ser considerada um fotoprotetor, pois seu FPS está acima de 6,0. O padrão com o valor de 37,97, como já esperado, obteve o valor considerado da sua embalagem. Nesse sentido, a formulação de maior interesse é a butanólica por apresentar um valor considerável de FPS (BRASIL, 2012).

Tal resultado indica que a formulação produzida a partir da fração butanólica possui potencial efeito fotoprotetor, sobretudo, às radiações ultravioletas. A formulação de extrato etanólico bruto obteve um valor de FPS de 4,68, e por ser considerado baixo, não pode ser considerado um protetor solar, todavia, sugere-se que este poderia ser incorporado a outros filtros solares, a fim de melhorar características do produto. Esses valores de FPS encontrados nas formulações com extratos se deve ao fato dessas substâncias apresentarem componentes fenólicos e flavonoides, sendo capazes de absorver na região do UV, visto que uma das funções que desempenham seja proteger a planta contra raios ultravioletas. Por esse motivo, o uso de produtos naturais e extratos vegetais em formulações de fotoprotetores está em tendência no momento, principalmente substâncias que garantem a atividade antioxidante, especialmente flavonoides (OLIVEIRA-JÚNIOR *et al.*, 2012).

A atividade fotoprotetora depende da capacidade de absorção de energia radiante atribuída aos grupos cromóforos, sendo proporcional ao comprimento de onda de absorção máxima. Nesse sentido, produtos naturais possuem muitas moléculas complexas, sendo somente algumas dessas moléculas ativas, tendo dificuldade em obter uma absorção máxima.

Assim, alguns conseguem apresentar absorção da UV, porém seus valores de FPS são considerados baixos, não sendo considerados filtros solares (Bobin *et al.*, 1994; CUNHA, 2005).

6.7. Razão UVA/UVB

A partir do cálculo realizado sobre a razão entre a curva UVA/UVB, utilizando o software Graphpad Prism®, foi obtido os seguintes valores (tabela 12):

Tabela 12. Razão UVA/UVB para as formulações butanólica e extrato etanólico bruto.

Formulação	UVA/UVB
Form BUT	2,20
Form EEB	2,50
Padrão	2,35

Tais resultados são classificados segundo o Sistema Boot's Star Rating, que relaciona as duas curvas, sendo, UVA (320 – 400 nm) e UVB (290 – 320 nm). Esses resultados podem ser analisados de acordo com as estrelas do Sistema Boot's Star Rating (Tabela 5), sendo que a maior proteção anti UVA corresponde ao maior número de estrelas (SILVA, 2015). Ao analisar a classificação, pode-se observar que as formulações apresentaram uma ultraproteção na região de UVA, pois tiveram razão maior do que 0,9. Isso indica que o produto apresenta uma proteção de amplo espectro, ou seja, ele protege tanto na região UVB quanto na UVA.

Muitos extratos vegetais possuem em sua constituição substâncias naturais com capacidade de absorverem na faixa UVA (320-400 nm) e UVB (290-320 nm), e isto está associado ao fato de serem antioxidantes. Como exemplo dessas substâncias pode-se citar os compostos fenólicos, como flavonoides. Por esse motivo, estudos vêm sendo elaborados, a fim de investigar substâncias antioxidantes capazes de absorverem radiação ultravioleta de amplo espectro, proteção muitas vezes não alcançada por filtros solares químicos sintéticos (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

6.8. Avaliação do potencial antioxidante do extrato e formulações

Os radicais livres são moléculas resultantes do metabolismo do organismo, que geram estresse oxidativo, sendo instáveis e altamente reativas, que contêm número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica. Seus alvos celulares podem ser proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA, e estes estão relacionados com o seu sítio de ação. Para tal, os radicais livres podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana (MUNTEANU; APETREI, 2021).

Através dos métodos DPPH e ABTS foi possível determinar a atividade antioxidante do extrato bruto, fração butanólica de *H. lulupus* e suas formulações. Foram obtidos os seguintes resultados expressos com média \pm desvio padrão descritos na tabela 13:

Tabela 13. Valores de IC50 obtidos para extrato etanólico bruto (EEB), fração butanólica (BUT) e formulação extrato etanólico bruto (Form EEB), formulação butanólica (Form BUT) e padrão Rutina.

Amostra	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)	
	DPPH	ABTS
Rutina	1,91 \pm 0,04	4,19 \pm 0,30
EEB	19,00 \pm 1,24	18,21 \pm 0,32
Form EEB	10,74 \pm 0,66	3,46 \pm 2,31
BUT	24,72 \pm 0,87	6,86 \pm 0,14
Form BUT	10,85 \pm 0,15	0,62 \pm 0,01

A Tabela 13 mostra os valores da IC50 (dose que elimina 50% dos radicais livres) em $\mu\text{g/mL}$, através do método do DPPH e ABTS. Os resultados são interpretados da seguinte maneira: quanto menor o valor da IC50, maior a atividade antioxidante. Visando correlacionar os resultados das análises de atividade antioxidante de acordo com cada metodologia, é possível destacar que não há diferença significativa entre a formulação de extrato etanólico bruto e a formulação butanólica, visto que ambas apresentaram potencial antioxidante. Todavia, vale destacar que os resultados de IC50 do radical ABTS das formulações foram melhores em comparação ao radical DPPH. Em relação aos extratos, os resultados de IC50 foram diferentes quando comparado as suas respectivas formulações. Isso é visto devido incorporação dos extratos em suas formulações, o que garantiu uma diminuição significativa do IC50, caracterizando melhora na atividade antioxidante.

Na metodologia do radical DPPH nenhuma das amostras conseguiu alcançar uma atividade oxidante equivalente da rutina ($1,91 \pm 0,04$). A amostra com valor mais próximo do padrão foi a formulação de extrato etanólico bruto ($10,74 \pm 0,66$), enquanto a de valor mais alto e com maior diferença se encontra a fração butanólica ($24,72 \pm 0,87$).

Na metodologia usando ABTS, a formulação de extrato etanólico bruto ($3,46 \pm 2,31$) obteve características de atividade antioxidante equivalente da rutina ($4,19 \pm 0,30$). Pode-se concluir analisando esses valores que a formulação butanólica ($0,62 \pm 0,01$) obteve uma concentração inibitória inferior a rutina, ou seja, ela apresenta uma capacidade antioxidante maior do que o padrão.

Os extratos de plantas possuem alta complexidade de moléculas que podem atuar intensificando a ação contra a radiação UV, o que garante atividade antioxidante. Os flavonoides fazem parte do grupo de compostos fenólicos, sendo exemplos de substâncias capazes de exercerem atividade antioxidante, visto que em sua estrutura possui vários grupos benzênicos, tendo como substituintes grupamentos hidroxilas. Os grupos hidroxilas constituinte do anel B consistem no fator mais significativo para o sequestro das espécies reativas e consequente o aumento da atividade antioxidante. Isso é justificado pelo fato de possuir uma melhor capacidade de doar elétrons (BALASUNDRAM *et al.*, 2006).

ALMEIDA (2019) determinou a atividade antioxidante de compostos bioativos do lúpulo (*Humulus lupulus L.*) cultivados no Brasil, comparando-o com a mesma variedade proveniente dos Estados Unidos. Comparando-as, os valores de IC50 para ABTS foram $21,29 \pm 1,36 \mu\text{L/mL}$ e $23,65 \pm 0,52 \mu\text{L/mL}$ para amostra brasileira e americana, respectivamente, enquanto os resultados para o radical DPPH foram de $3,91 \pm 0,17 \mu\text{L/mL}$ e $5,79 \pm 0,05 \mu\text{L/mL}$, respectivamente. Vale destacar que foram encontrados no mesmo estudo maiores resultados para teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais na amostra brasileira, consequentemente, obtendo maior atividade antioxidante (ALMEIDA, 2019).

6.9. Avaliação da citotoxicidade do extrato e formulações

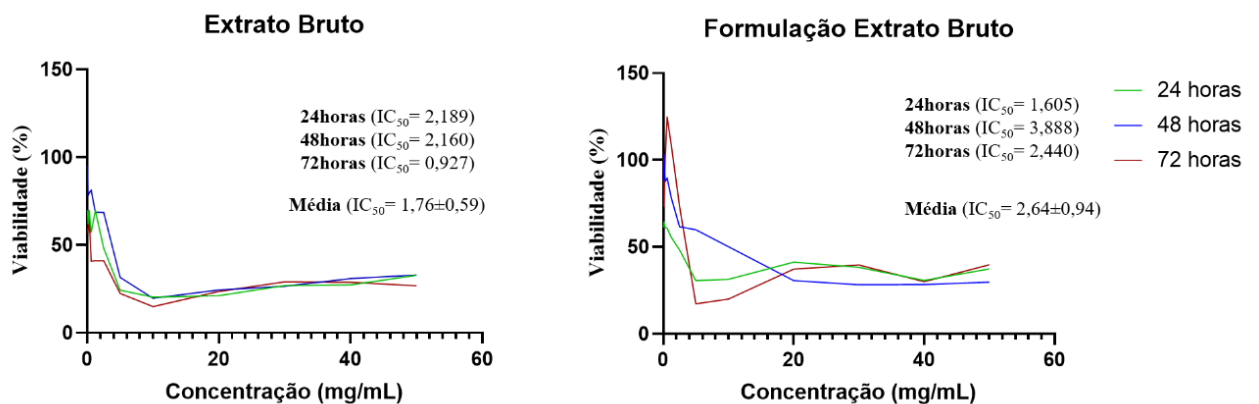
As substâncias químicas presentes nas espécies vegetais podem ser tóxicas, mutagênicas, carcinogênicas e teratogênicas. Nesse sentido, foi realizado a avaliação da citotoxicidade do extrato e formulações, a fim de pesquisar sobre agentes antineoplásicos. Os métodos *in vitro* são amplamente utilizados, e isso se deve ao fato de ensaios em cultura de células serem os mais utilizados em investigações antitumorais. Os ensaios de citotoxicidade estão diretamente relacionados com a interferência dos agentes químicos nos processos de

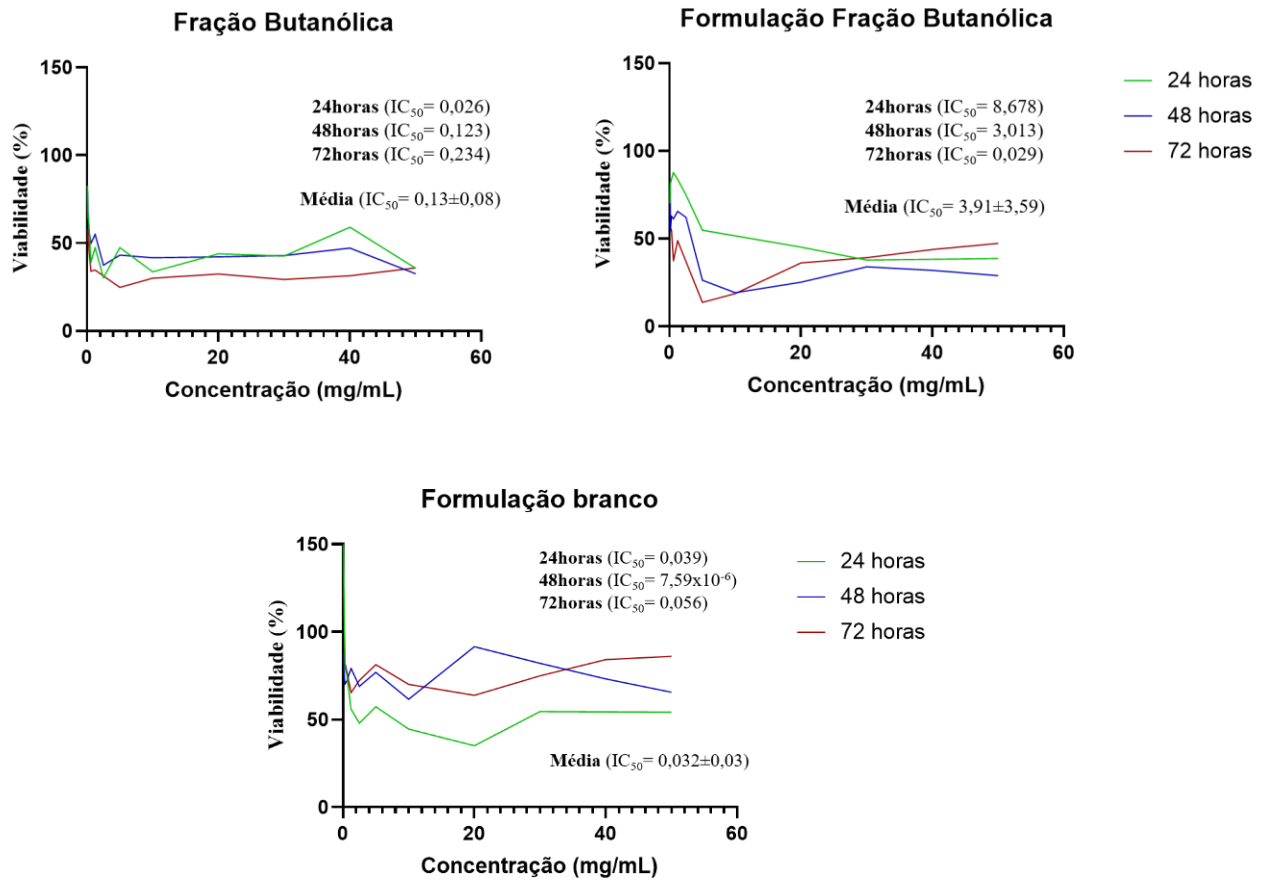
metabólicos celulares. Esses processos podem ser influenciados por crescimento e/ou multiplicação celular, podendo chegar à morte celular (FRESHNEY, 2005).

A concentração do corante SRB é medida através da absorção medidas na absorbância de 490 nm de comprimento de onda em leitor de microplaca, calculou-se a média \pm erro padrão da viabilidade celular em relação ao controle de células. Assim, a viabilidade celular é calculada com base nos dados de absorbância obtidos. O valor final do índice de citotoxicidade é medido pelo IC50, que significa que a concentração do extrato que induz 50% de lise ou morte celular (LUGÃO *et al.*, 2003). A avaliação da citotoxicidade do extrato e suas formulações pela resposta das células foi realizada nos períodos de 24, 48 e 72 horas, como mostra nos gráficos da Figura 15.

Através dos gráficos, foi possível observar que o IC50 do extrato etanólico bruto foi $1,76 \pm 0,59$ mg/mL, sendo possível avaliar que houve um aumento da citotoxicidade de acordo com o tempo de contato da amostra com as células, ou seja, a viabilidade celular foi reduzida com esse tempo de contato, pois a concentração de IC50 reduziu. Já na formulação de extrato etanólico bruto obteve um IC50 de $2,64 \pm 0,94$ mg/mL, sendo possível destacar um aumento ao longo do tempo. Dessa forma, pode-se dizer que formulação apresentou uma capacidade protetora das células ao encapsular o extrato e liberar lentamente os compostos presentes. Também vale ressaltar que ao comparar o extrato etanólico bruto e sua formulação, é possível observar que a formulação conseguiu diminuir a citotoxicidade do extrato.

Figura 15. Avaliação da citotoxicidade do extrato e formulações representada em gráficos com curva de viabilidade celular nos tempos de 24, 48, e 72 horas, referentes ao extrato etanólico bruto e formulação, fração butanólica e formulação branco. Fonte: SAMPAIO (2022).





Na fração butanólica observa-se um valor final na concentração de IC₅₀ de 0,13 ± 0,08 mg/mL, sendo caracterizada com maior citotoxicidade do que o extrato etanólico bruto. Isso se deve ao fato da fração butanólica ser mais concentrada em metabólitos secundários do que o extrato bruto. Já a formulação butanólica foi capaz de conferir proteção, visto que, obteve uma concentração média de IC₅₀ de 3,91 ± 3,59 mg/mL, sendo que inicialmente no tempo de 24 horas conseguiu alcançar um IC₅₀ de 8,678 mg/mL, considerado o maior resultado de todo o estudo, e, portanto, sendo o menos citotóxico. Porém, no tempo de contado com a célula de 72 horas é possível observar que a concentração inibitória (IC) de 50% dessas células se tornou equivalente a concentração da fração butanólica pura com uma concentração de 0,029 mg/mL. Pode-se concluir, que inicialmente a formulação butanólica foi protetora, porém, com a liberação dessa fração presente na formulação, ela obteve uma concentração citotóxica equivalente da fração pura.

A formulação branco foi avaliada, tendo uma citotoxicidade significativa em relação a formulação. Dessa forma, vale ressaltar que a associação da formulação com o extrato foi

benéfica para as células, visto que a citotoxicidades dos extratos foi diminuída, e isto se deve ao fato de garantirem uma liberação mais lenta dos metabólitos presentes nos extratos.

6.10. Avaliação da temperatura de gelificação

Através do Reômetro de Bookfield DV-III Ultra, utilizando Cone Plate (CP-52), variando RPM de 0-100 para a avaliação da temperatura de gelificação, foi possível obter diferentes viscosidades em relação a temperatura na faixa de 8 a 20°C. Assim, a partir desses dados foram obtidos os seguintes gráficos mostrados nas figuras 16 e 17:

Figura 16. Gráficos caracterizam o comportamento reológico da formulação de extrato etanólico bruto (EEB) em diferentes temperaturas. As temperaturas nos títulos representam a média em cada gráfico. Fonte: SAMPAIO (2022).

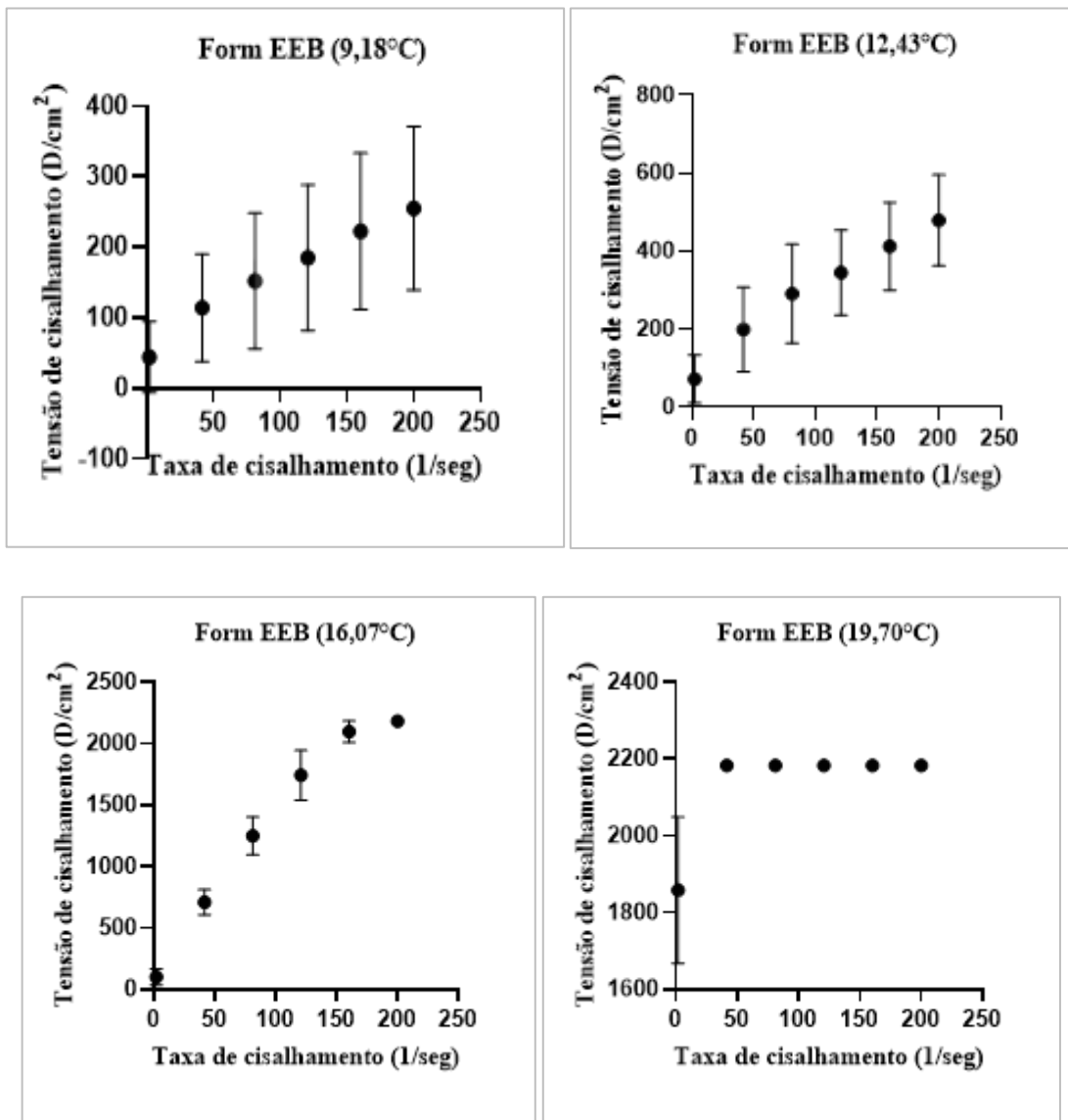
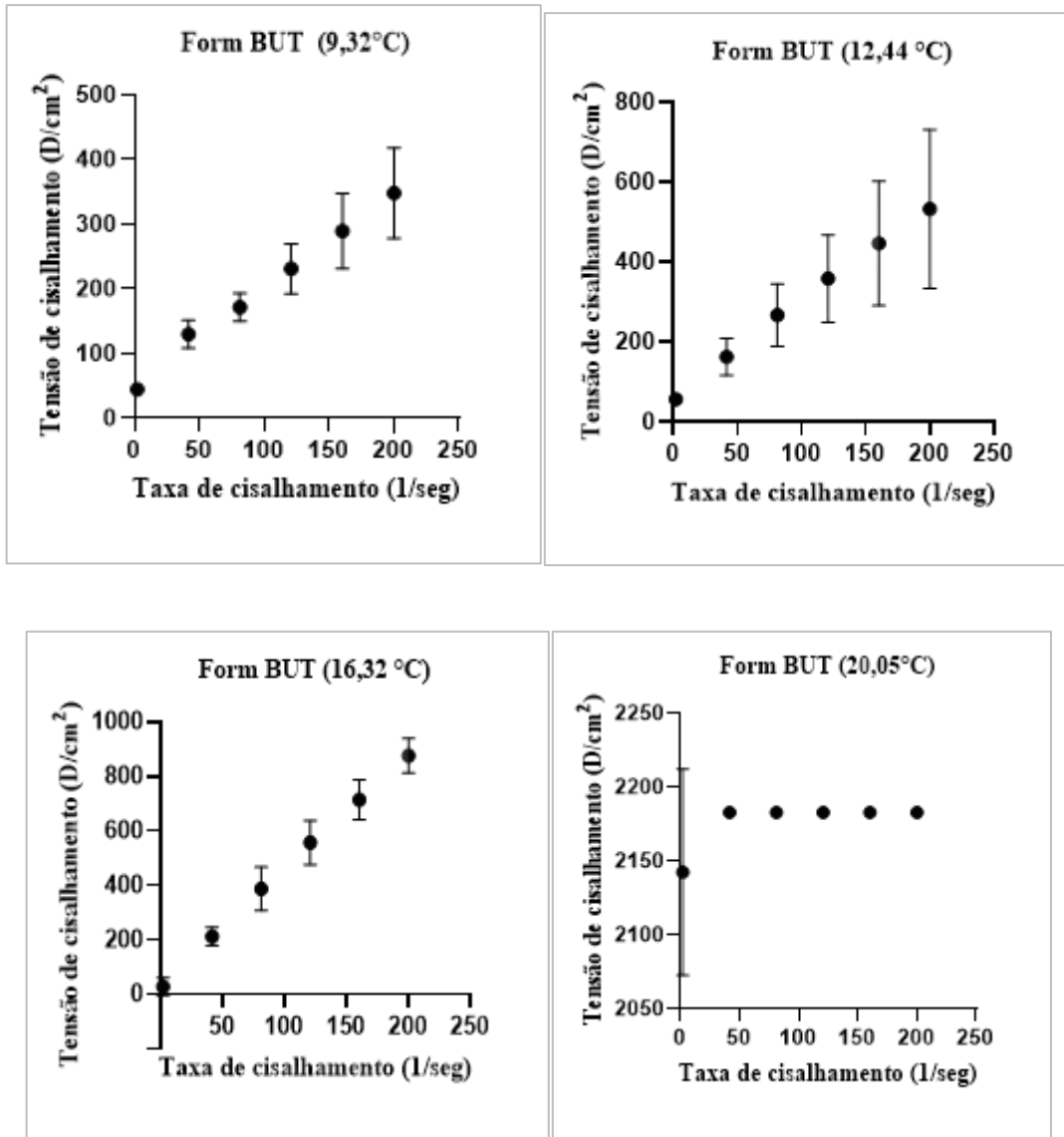


Figura 17. Gráficos caracterizam o comportamento reológico da formulação da fração butanólica em diferentes temperaturas. As temperaturas nos títulos representam a média em cada gráfico. Fonte: SAMPAIO (2022).



De acordo com o método reológico, as formulações preparadas aumentaram significativamente a viscosidade com o aumento da temperatura. Em relação a formulação de extrato etanólico bruto, sua maior viscosidade se encontra na faixa de 16 a 20°C, sendo que em 20°C é possível observar um equilíbrio no gráfico. Já em relação a formulação butanólica, na temperatura de 20°C também existe o mesmo equilíbrio. Isso se deve ao fato de que próximo a essa temperatura se encontra a temperatura de gelificação da amostra. Sendo assim, o comportamento reológico de ambas as formulações foi parecido, visto que a temperatura que ocorreu a gelificação e a tensão de cisalhamento foram em faixas parecidas no equilíbrio

alcançado. Nesse contexto, é importante destacar a importância desse teste em relação a aparência do produto para o consumidor, pois a viscosidade é um grande parâmetro de análise para o consumo.

Ambas as formulações avaliadas pelo comportamento reológico apresentaram temperatura de gelificação entre 16 e 20°C, e isto é justificado ao fato da presença do poloxamer 20% em ambas as formulações. Os poloxâmeros são copolímeros que contém propriedade de gelificação termorresponsível, sendo assim, em temperaturas mais baixas ele se encontra no estado líquido com baixa viscosidade e em temperaturas maiores forma-se um gel, aumentando sua viscosidade. Isso é explicado devido o fenômeno da termogeleificação do poloxamer, que nesse estudo é caracterizado por uma temperatura de transição solução-gel. Nesse sentido, abaixo da temperatura de transição a amostra permanece fluida e acima desta temperatura, a solução se torna semissólida, formando um gel (ALVES, 2018).

Além disso, vale ressaltar que vários polímeros hidrofílicos, por exemplo, o carbopol (ácido poliacrílico), incorporados a um hidrogel de poloxamer são adicionados ao sistema como agentes auxiliares para liberação de fármacos. Assim, o poloxamer possui a função de agente gelificante e o polímero secundário como um agente carreador (PEREIRA; DIMER; GUTERRES, 2013).

FERREIRA (2015) avaliou o método reológico com preparações de um sistema bioadesivo contendo carbopol 971P e poloxamer 407. Nas formulações contendo poloxamer 407 em 15 e 20%, com o aumento da temperatura foram encontrados valores de viscosidade significativamente maiores do que nas formulações com concentrações crescentes de carbopol 971P. A gelificação foi induzida pelo aumento da temperatura, mas com o aumento da concentração de aditivos, sais e outros polímeros, como o carbopol 971P, houve uma diminuição da gelificação, e conseqüentemente a diminuição da transição sol-gel (BRUSCHI, 2006; PEREIRA, 2011; FERREIRA, 2015).

Dessa forma, nesse estudo em questão, destaca-se o uso do carbopol na formulação como um carreador com a função de aumentar a biodisponibilidade do hidrogel. Assim, pode-se explicar que a temperatura de gelificação foi um pouco menor do que esperado devido a incorporação do carbopol na formulação.

7. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que esse trabalho obteve resultados capazes de demonstrar a capacidade dos extratos da folha de *Humulus Lupulus L.* de absorverem a radiação ultravioleta, que atendeu as expectativas e gerou resultados satisfatórios. Nesse sentido, a fração butanólica se destacou por apresentar capacidade antioxidante e atividade fotoprotetora. Além disso, mesmo que a formulação obtida a partir da fração butanólica tenha apresentado um baixo FPS, seu valor está acima do mínimo de acordo com a ANVISA, e estudos *in vitro* comprovaram seu possível uso como protetor solar de amplo espectro, além de obter ultraproteção na região de UVA. Já a formulação de extrato etanólico bruto apresentou FPS abaixo do valor mínimo necessário, porém, absorveu na região de UV e obteve características antioxidantes. Dessa forma, a formulação de extrato etanólico bruto pode ser estudada para uma possível associação com outros filtros solares.

Deve-se destacar que a formulação desenvolvida conseguiu reduzir a citotoxicidade e fortalecer sua atividade antioxidante. Além disso, através dos estudos de análise físico-química das formulações, pôde-se constatar que as formulações apresentadas demonstraram resultados de índice de polidispersão e tamanho de partícula consideráveis, visto que obtiveram boa estabilidade e solubilidade nos extratos.

Por fim, foi possível obter bons resultados que podem contribuir para um possível protetor solar natural comercializado. Todavia, para isso ser possível, precisa-se de mais estudos, visto que o produto não possui boa aparência de cor como protetor solar, podendo ocasionar em possíveis estudos na área de nanotecnologia, purificação, entre outros.

8. REFERÊNCIAS

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

ALMEIDA, A. R. **Caracterização do lúpulo (*Humulus lupulus L.*) cultivado no Brasil, obtenção dos seus extratos e aplicação em filmes poliméricos**, 154p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 2019.

ALVES, F. M. C. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas mucoadesivos fitoterápicos de camomila (*matricaria recutita l.*) para aplicação local durante a erupção dentária**. 2018. 92 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

ALVES, P. V; QUERINO, C. A.S; RIZZUTI, B.F. VAZ, M.A.B; QUERINO, J. K. A; N. PINHO, J.A. A importância do conceito da radiação solar na educação básica: a percepção de alunos do ensino médio sobre a temática. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 43, 2021.

ALCHORNE, M. M. A.; ABREU, M. A. M. M. Dermatology in black skin. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 83, n. 1, p. 7-20, 2008

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos. Uma abordagem sobre os Ensaios Físicos e Químicos, 2007.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. Gerência Geral de Cosméticos, v. 1, 2004.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos, 2ª Edição, 2012.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos. Ministério da Saúde, 2012.

ARAÚJO, C. R. M.; SANTOS, V. L. A.; GUIMARÃES, D. G.; OLIVEIRA-JUNIOR, R. G.; ALMEIDA, J. R. G. S.; GONSALVES, A. A. Síntese e Determinação *in vitro* do FPS-UVB de Oximas Derivadas do Lapachol. **Rev. Quim Virtual**, v. 6, n. 6, p. 1702-1712, 2014.

BABY, A. R.; FILHO, C. A. H.; SARRUF, F. D, *et al.* Estabilidade e estudo de injeção *in vitro* da rotina veiculada em uma emulsão cosmética através de um modelo de biomembrana alternativo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 2008; 44 (2):233–248.

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.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 732-742, 2011.

BALDIM, I.; TONANI, L.; KRESS, M.R.V.Z, & OLIVEIRA, W.P. Lippia sidoides essential oil encapsulated in lipid nanosystem as an anti-Candida agent. **Industrial Crops and Products**, v. 127, p. 73-81, 2019.

BARBOSA, F. S. **Modelo de impedância de ordem fracional para a resposta inflamatória cutânea**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Bioétia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

BATISTUZZO, J. A. O.; ITAYA, M.; ETO, Y. FORMULÁRIO MÉDICO FARMACÊUTICO. **Tecnopress**: São Paulo, 2^a ed. 2002.

BLANCO-FUENTE, H. *et al.* “*In-vitro* bioadhesion of carbopol hydrogels.” **International journal of pharmaceutics**, v. 142, n. 2, pp. 169-174, 1996.

BOBIN, M. F.; RAYMONDR, M.; MARTINI, M. C. UVA/UVB absorption properties of natural products. **Cosmet Toiletries**, v. 109, p. 63-78, 1994.

BOCHI, L. D. C. S. **Desenvolvimento, Caracterização e Avaliação da Atividade Antinociceptiva de uma Formulação Tópica Semissólida contendo Nanocápsulas de Meloxicam**. 147 p. Dissertação (Mestrado) apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Nanociências do Centro Universitário Franciscano - UNIFRA, Santa Maria, RS, 2010.

BOCQUET, L. et al. *Humulus lupulus L.*, a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. **Phytochemistry Reviews**, v. 17, n. 5, p. 1.047-1.090, 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Gerência-Geral de Cosméticos. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. Brasília, 2004.

BRASIL. Ministério da saúde. Resolução RDC nº 30 de 01 de junho de 2012. Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, 4 jun. 2012.

BRAYTON, C.F. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review. **Cornell Vet.** v.76-90, 1986.

BRUSCHI, M.L. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas de liberação de própolis intrabolsa periodontal**, 2006, 318 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

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

CÂMARA TÉCNICA DE COSMÉTICOS (Catec). Pareceres Técnicos. Recomendações técnicas com requisitos específicos para determinados tipos de produtos ou substâncias.

COSTA, V. R.; MOREIRA, M. M. S.; MONTEIRO, R. V. C. Os efeitos da incidência excessiva da radiação ultravioleta na pele – Artigo de revisão. **Revista Interdisciplinar do Pensamento Científico**, v. 5, n. 2, p. 117-146, 2019.

CUNHA, A. P. Farmacognosia e Fitoquímica Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2005.

DANOVARO, R. *et al.* Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 4, p. 441, 2008.

DENGO, B. L.; FERREIRA, J. R. N. A. Avaliação in vitro do potencial fotoprotetor do extrato do bagaço da uva Isabel (*Vitis Labrusca L.*). **Evidência**, Joaçaba, v. 17, n. 1, p. 45-56, 2017.

DONG, N. Q; LIN, H. X Contribution of phenylpropanoid metabolismo to plant development and plant-environment interactions. **J. Integr. Plant Biol**, v. 63, p. 180–209, 2021.

DOWNS, C. A. *et al.* Oxybenzone contamination from sunscreen pollution and its ecological threat to Hanauma Bay, Oahu, Hawaii, U.S.A. **Chemosphere**, v. 291, n. 2, 2021.

DURELLO, R. da S. **Química do sabor de cervejas: detalhes moleculares de lúpulos (*Humulus lupulus*) cultivados no Brasil no processo cervejeiro**. Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ JR.; S. Química do lúpulo. **Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 900-919, 2019.

FARIAS, M. P. **Citotoxicidade de Medicamentos Intracanáis em fibroblastos L929**. Tese (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal de Sergipe. Aracaju, 2014.

FERLAY, J. *et al.* Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. **Annals of Oncology**, Dordrecht, Boston, v. 18, n. 3, p. 581-592, 2007.

FERLAY, J.; COLOMET, M.; SOERJOMATARAM, I, *et al.* Estatísticas de câncer para o ano de 2020: uma visão geral. **Jornal Internacional de Câncer**, v. 149, n. 4, p. 778-789, 2021.

FERNANDES, N. M. Uma síntese sobre aspectos da fotossíntese. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v. 11, n. 2, p. 1-6, 2011.

FERRARI, M.; OLIVEIRA, M. S. C.; NAKANO, A. K.; ROCHA-FILHO, P. A.; Determinação do fator de proteção solar (FPS) in vitro e in vivo de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). **Rev. bras. farmacogn.** v. 17, n. 4, 2007.

FERREIRA, S. B. S. **A utilização das análises mecânicas e reológicas no desenvolvimento de sistemas bioadesivos termorresponsivos**, Maringá-PR, UEM, 2015, 114p. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) – Universidade Estadual de Maringá, 2015.

FITZPATRICK, T. B. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. **Archives of Dermatology**, v. 124, p. 869-871, 1988.

FILIPI, D.; MACOCINSCHI, D.; ZALTARION, M.-F.; GAFITANU, C. A; TUCHILUS, C. G; BELE, A.; CIUBOTARU, B.-I.; STOLERU, E.; BARGAN, A. Géis de carbopol carregados com alantoína/ β ciclodextrinas mucoadesivos e antimicrobianos como andaimes para medicina regenerativa. **Gels**, v. 8, n. 7, p. 416, 2022.

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

FONSECA, E.Q; CASTILHO, R.B; SILVA G.F. **Avaliação do potencial fotoprotetor dos óleos essenciais e extratos etanólicos de *Aniba canelilla* (HBK) Mez.** Universidade do Estado do Amazonas, Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Pós-Graduação em Química, 2015.

FRANCO, L. T.; BOCHI, D. C. S. Produção e caracterização de diferentes formulações tópicas semissólidas contendo meloxicam na forma nanoestruturada. Vivências: **Revista Eletrônica de Extensão da URI**, v. 9, n. 16, p. 209-231, 2013.

FRESHNEY, R.I. Culture of Animal Cells. A Manual of Basic Technic 5 th edition. New York: Wiley-Liss, 2005.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P-U. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (biología)**, v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GARCIA, E. B; MACHADO, S.C; FERRARIS, F.K; AMENDOEIRA, F.C. Contaminação ambiental e da cadeia alimentar com filtros solares: um potencial risco à saúde humana. **Revista Analytica**, n. 77, p. 45-54, 2015.

GIUSEPPE. E. Di.; CORBI, F.; FUNICIELLO, F.; MASSMEYER, A.; SANTIMANO, T. N.; ROSEANU, M.; DAVAILLE, A. Characterization of Carbopol® hydrogel rheology for experimental tectonics and geodynamics. **Tectonophysics**, v. 642, p. 29–45, 2015.

GUARANTINI, T.; CALLEJOR, D. R.; PIRES, D. C.; LOPES, J. N. C; LIMA, L. M; NETO, D. G.; SUSTOVICH, C.; LOPES, N. P. Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa. **Quím. Nova**, v. 32, n. 3, 2009.

HAWK, J.; MCGREGOR, J. Cuidados com a pele e com o sol. São Paulo: **Editora Três Ltda**, 2001.

INCA - Instituto Nacional do Câncer – Estimativa 2023: Incidência de câncer no Brasil, Rio de Janeiro, 2022.

IWASHINA, T. Função e atividade dos flavonóides para plantas e outros organismos. **Biol. ciência Espaço**, v. 17, p. 24-44, 2003.

JIANG, C. *et al.* Atividade anticancerígena e mecanismo de xantohumol: um flavonóide prenilado de lúpulo (*Humulus lupulus* L.). *Frente. Pharmacol.*, 22 de maio de 2018.

JOUDEH, N.; LINKE, D.; Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 20, n. 262, 2022.

KARKI, S.; KIM, H.; NA, S.-J.; SHIN, D.; JO, K.; LEE, J. Thin films as a emerging platform for drug delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.11, n.5, p. 559 – 574, 2016.

KATHE, K.; KATHPALIA, H. Film forming systems for topical and transdermal drug delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, India, v. 12, n. 6, p. 487-497, 2017.

LANGE, M.K.; HEBERLÉ, G.; MILÃO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 145-151, 2009.

LEE, W.; LEE, T.G.; KOH, W. Grafting of Poly (acrylic acid) on the Poly (ethylene glycol) Hidrogel Using Surface-initiated Photopolymerization for Covalent Immobilization of Collagen. **Journal of Industrial Engineering and Chemistry**, v. 13, n.7, p. 1195-1200, 2007.

LEMOS, L. R. Avaliação de Diferentes Potências das medicações homeopáticas *Argentum metallicum* e *Arsenicum album*: A busca do entendimento científico da homeopatia. Dissertação de Mestrado em Engenharia Biomédica, Publicação 069A/2017, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, Faculdade Gama, Universidade de Brasília, Brasília, DF, no. 64 p.

LI, X.; WU, X.; HURANG, L. Correlation between antioxidant activities and phenolic contents of radix *Angelicae sinensis* (Danggui). *Molecules* 2009, 14, 5349.

LIMA NETO, G. A *et al.* Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, v. 17, n. 4, p. 1069- 1077, 2015.

LOBOSCO, M. P. J.; SILVA, R. M. C. R. A.; PEREIRA, E. R.; CARNEIRO, E. C. S. P.; ANDRADE, A. C. S. A relação entre a educação ambiental e protetores solares naturais: uma revisão integrativa. **Society and Development**, v. 9, n. 6, 2020.

LOPES, J. A. C. **Perfil da Fotoexposição e Fotoproteção de Profissionais Terceirizados da Universidade Federal da Paraíba** – Campus I. Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

LOPES, L. G.; SOUSA, C. F.; LIBERA, L. S. D. Efeitos biológicos da radiação ultravioleta e seu papel na carcinogênese de pele: Uma revisão. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v. 6, n. 2, 2017.

LUGÃO, S. O. R.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. Teste *in vitro* de Citotoxicidade: Estudo Comparativo entre Duas Metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

LUZIN, R. M. **Síntese e avaliação de novos candidatos a fotoprotetores absorvedores de radiações UVA e UVB, desenhados a partir de compostos análogos a produtos naturais**. 2018. Tese (Doutorado) – Curso de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.

MACHADO, W. A. C. **Avaliação do potencial de resíduos do lúpulo como inibidor do crescimento bacteriano para melhor reaproveitamento de dejetos bovinos do meio rural**. Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2019.

MAES, D.; MARENUS, K.; SMITH, W. P. Novos Avanços na Fotoproteção. **Cosmetics & Toiletries**, v. 4, p. 40-45, 1992.

MANCIBO, S.E.; JUDY, Y. HU.; STEVEN, Q. W. A Review of Health Benefits, Regulations, and Controversies. **Dermatologic Clinics**, v. 32, n. 3, p. 427-438, 2014.

MANSUR, J. de S. **Determinação do fator de proteção solar dos bronzeadores e filtros solares brasileiros em seres humanos e por espectrofotometria**. Tese (Doutorado em Dermatologia) – Faculdade de Medicina, Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1984.

MANSUR, J.S.; BRENDER, M.N.R.; MANSUR, M.C.A.; AZULAY, R.D. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.61, p.167-172, 1986.

MARQUELE-OLIVEIRA, F.; FONSECA, Y. M.; FONSECA, M. J. V. Desenvolvimento de formulações tópicas antioxidantes. **Cosmetics & Toiletries**, v. 20, p. 64-68, 2008.

MASSON, P.; SCOTTI, L. Fotoproteção: Um Desafio para a Cosmetologia. **Cosmetics & Toiletries**, v. 15, p. 42-53, 2003.

MARTENDAL, E; BRANDES, J; SCHUTZ.; F.E. **Efeitos cutâneos da radiação ultravioleta e a importância do filtro solar** – Revisão de Literatura. Trabalho de Conclusão de Curso em Tecnologia em Cosmética e Estética. Universidade do Sul de Santa Catarina. Santa Catarina, 2018.

MATHEUS, L. G. M.; KUREBAYASHI, A. K. Fotoproteção: a radiação ultravioleta e sua influência na pele e cabelos. São Paulo: **ABC - Associação Brasileira de Cosmetologia**, 2002.

MELO, C. N. **Desenvolvimento e validação da metodologia para determinação do FPS in vitro de formulações fotoprotetoras naturais**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

MONTEIRO, M. S. Filtros Solares em Nanocosméticos: Desenvolvimento e Avaliação da Segurança e Eficácia. 2008. 164p. Dissertação (MESTRADO) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MONTI, D. *et al.* Poloxamer 407 microspheres for orotransmucosal drug delivery. Part II: In vitro/in vivo evaluation. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v. 400, n. 1-2, p. 32-36, 2010.

MOURA, M. M. V. **Conhecimento da população sobre fotoproteção: Uma revisão da literatura**. Trabalho de Conclusão de Curso, Coordenação do Curso de Farmácia, CCS/ UFPB, 2020.

MOURA, M. R. de. **Caracterização de Matriz Polimérica de Hidrogel Termossensível Sintetizada a Partir de Alginato-Ca²⁺ e Poli (N-isopropil acrilamida), do Tipo IPN e Semi-IPN**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.

MORA, J. T. C.; MORA, K. N. S. **Diseño de un protector solar tipo hidrogel a base de extracto de Inonotus obliquus**. Programa de Química Farmacéutica, Universidad El BosqueFacultad, Bogotá DC, 2022.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3380, 2021.

NAKAYAMA, T.; TAKAHASHI, S.; WAKI, T. Formação de metabólons flavonóides: Significado funcional das interações proteína-proteína e impacto na quimiodiversidade flavonóide. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, art. 821, 2019.

NASCIMENTO, C. S.; NUNES, L. C. C.; LIMA, A. A. N.; GRENGEIRO, S.; NETO, P. J. Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha. **Rev. Bras. Farm.**, v. 90, n. 4, p. 334-9, 2009.

NASCIMENTO, L. F.; SANTOS, E. P.; AGUIAR, A. P. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. **Rev. Virtual Quim**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 2, p. 190-223, 2014.

NASCIMENTO, N. I.; BARDAQUIM, V. A.; FARIA, D. L.; DIAS, E. G.; ROBAZZI, M. L. C. A experiência da elaboração de um material didáco sobre câncer de pele para trabalhadores rurais. **Saúde em Redes**. v 4, n. 3, p. 143-152, 2018.

NISHIKAWA, D. O. **Desenvolvimento, avaliação da eficácia e estabilidade de formulações fotoprotetoras bioativas**. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012.

OKUNO, E.; VILELA, M. A. C. **Radiação Ultravioleta: Características e efeitos**, 1ª edição. São Paulo: Livraria da Física, 2005. Acesso em: 20 ago, 2022.

OLIVEIRA, D. A. G. C.; DUTRA, E. A.; SANTORO, M. I. R. M.; HACKMANN, E. R. M. K. Protetores Solares, Radiações e Pele. **Cosmetics & Toiletries**, v. 16, n. 2, p. 68-72, 2004.

OLIVEIRA, F. G. S.; VERAS, B. O.; SILVA, A. P. S.; ARAÚJO, A. D.; BARBOSA, D. C. S.; SILVA, T. C. M.; Photoprotective activity and HPLC-MS-ESI-IT profile of flavonoids from the barks of *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae): development of topical formulations containing the hydroalcoholic extract. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 35, n. 1, p. 504 – 516, 2021.

OLIVEIRA, F. M. **Desenvolvimento de formulações tópicas fotoquimioprotetoras contendo extrato de própolis: estudos de estabilidade, permeação e retenção cutânea in vitro e de eficácia in vivo**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, 2007.

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

OSTERWALDER, U.; LUTHER, H.; HERZOG, B. Novo Protetor UVA. **Cosmetics & Toiletries**, v. 12, n. 4, p. 52-59, 2000.

OVIEDO, R.; MÉNDEZ, N. A. N.; GÓMEZ, M. P. G. Design of a Physical and Nontoxic Crosslinked Poly (Vinyl Alcohol) Hydrogel. **International Journal of Polymeric Materials**, v. 57, n. 12, p. 1095–1103, 2008.

ÖZEKER, E. Phenolic compounds and their importance. *Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute*, v. 9, p. 114-124, 1999.

PAOLA, M. V. R. V.; RIBEIRO, M. E. Interação entre Filtros Solares: Avaliação “in vitro” de Efeito Sinérgico. **Cosmetics & Toiletries**, São Paulo, v. 10, p. 40-50, 1998.

PATEL, Gayatri C.; JOSHI, Sachin A. Targeting aspects of hydrogels in drug delivery. **Biomedical Applications of Nanoparticles**, p.195-231, 2019.

PEREIRA, G. G.; DIMER, F. A.; GUTERRES, S. S. Formulation and characterization of Poloxamer 407®: Thermoreversible 72 gel containing polymeric microparticles and hyaluronic acid. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p.1121-1125, 2013.

PEREIRA, R. R. A. **Desenvolvimento e caracterização de sistema mucoadesivotermostável contendo micropartículas de própolis para potencial tratamento de candidíase vulvovaginal**, Maringá-PR. UEM, 2011. 172p. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) – Universidade Estadual de Maringá, 2011.

PINHO, J. J. R. G.; FREITAS, T. S.; PINHO, D. J. M. R.; ALVES, M. S.; SOUSA, O. V. Determinação do fator de proteção solar (in vitro) de produtos magistrais na forma de gel. avaliação dos aspectos sensoriais e físico-químicos. **HU Revista**, p. 81–88, 2014.

RANA, Z. H.; ALAM, M. K.; AKHTARUZZAMAN, M. Nutritional Composition, Total Phenolic Content, Antioxidant and α -Amylase Inhibitory Activities of Different Fractions of Selected Wild Edible Plants. **Antioxidants**, v. 8, n. 203, p. 1-15, 2019.

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

REGISTRE, C. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação in vitro de nanopartículas lipídicas de anfotericina B para o tratamento de Leishmaniose**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, p. 84, 2020.

REIS, S. A. G.B. **Desenvolvimento de formulações fitocosmética sfotoprotetoras a base de Ximenia americana L., nativa do semiárido brasileiro**. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Petrolina, Petrolina-PE, 2016.

Resolução RDC no 47, de 16 de março de 2006. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/legis/especifica_registro.htm>. Acesso em: 16 julho 2023.

ROCHA, F. A. G *et al.* O uso Terapêutico da Flora na História Mundial. **HOLOS**, v. 1, n. 31, 2015.

ROMERO, V.; GUERRA, L. O. AIELLO, L.; LEONARDI, G. R. Reações adversas ocasionadas por uso de protetores solares. **Surg Cosmet Dermatol**. v. 9, n. 1, p. 41-5, 2017.

RUEL-GARIÉPY, E. *et al.* A thermosensitive chitosan-based hydrogel for the local delivery of paclitaxel. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, n. 1, p. 53–63, 2004.

RUSSO, E.; VILLA, C. Hidrogéis de poloxamer para aplicações biomédicas. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 12, p. 671, 2019

SAEWAN, N.; JIMTAISONG, A. Fotoproteção de flavonóides naturais. **Jornal da Ciência Farmacêutica Aplicada**. v. 3, n. 9, p. 129–141, 2013.

SAMPAIO, J. F. **Análise do potencial fotoprotetor dos extratos de Humulus lupulus e formulação de protetor solar de amplo espectro**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, p. 91, 2022.

SANTANA, J. L, PENÃ, M.; MARTÍNEZ, F.; GÓMEZ A.; CORDONÍU, E.; GARCIA, O.; GARCIA G.; VARGAS, L. M.; GARCÍA, M.; GARCIA, C. Evaluación de la actividad antimicrobiana, fotoprotectora, antielastasa y antioxidante de polifenóis de origen natural,

empleados en formulaciones cosméticas. **XV. Congreso Latinoamericano e Ibérico de Químicos Cosméticos**. Buenos Aires, Argentina, 2001.

SANTOS, K. F.; DÁVILA, J. L.; D'ÁVILA, M. A. Estudo da reologia de hidrogéis compósitos de PEG-Laponita-alginato visando impressão 3D baseada em extrusão. **Revista Matéria**, v. 22, n. 2, 2022.

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

SANTOS, S. O.; SOBRINHO, R. R.; OLIVEIRA, T. A. Importância do uso de protetor solar na prevenção do câncer de pele e análise das informações desses produtos destinados a seus usuários. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 6, p. 279-285, 2018.

SANTOS, V. A. **Estudo fitoquímico e atividade antioxidante do extrato e frações das folhas de *Humulus lupulus L.* (Cannabaceae)**. Trabalho de conclusão de curso. Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto. 2018.

SANTOS, V. M. **Preparação de Filtros Solares em Nanosistema Visando à Maior Ação Protetora**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

SAYRE, R. M.; AGIN, P. P.; LEVEE, G. J.; MARLOWE, E. Performance of Six Sunscreen Formulations on Human Skin: A Comparison. **Photochem Photobiol**, v.115, p. 46-49, 1979.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R.; Caracterização e Estabilidade Físico-química de Sistemas Poliméricos. **Quim. Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHALKA, S.; ADDOR, F. A. S.; AGELUNE, C. M.; PEREIRA, V. M. C. Proteção oferecida por fotoprotetores contra luz visível – uma proposta de avaliação. **Surg Cosmet Dermatol**, p. 45-52, 2012.

SCHUELLER, R.; ROMANOWSKI, P. Introdução aos produtos fotoprotetores. **Cosmet Toilet**, v. 12, n. 4, p. 60-67, 2000.

SILVA, C. M. B. **Formulação de gel termossensível mucoadesivo contendo cloridrato de pilocarpina para tratamento de xerostomia**. Tese do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2017.

SGARDI, F. C.; DO CARMO, E. D.; ROSA, L. F. B. Radiação ultravioleta e carcinogênese. **Revista de Ciências Médicas**, v. 16, n. 4-6, 2007.

SILVA, C. S. **Fotoproteção: Um cuidado para todos os tipos de pele**. Monografia (Especialização) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, p. 35, 2009.

SILVA, C. F. **Testes para avaliação do fator de proteção solar de produtos cosméticos fotoprotetores**. Trabalho de Conclusão de Curso - Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2007.

SILVA, E. T. T.; ALMEIDA JUNIOR, L. D. Uso medicinal da *Cannabis sativa L.* (Cannabaceae): aspectos biológicos e a legislação no Brasil. **Revista Fitos**, v. 17, n. 1, p. 89-102, 2023.

SILVA, R. R.; MACHADO, P. F. L.; ROCHA, R. J.; SILVA, S. C.F. A Luz e os Filtros solares: Uma temática sociocientífica. **Rev. Virtual Quim.**, v. 7, n. 1, p. 218-241, 2015.

SILVA, R. G. **Estudo botânico, fitoquímico e avaliação in silico e in vitro de atividades biológicas de folhas de *Humulus lupulus L.* (Cannabaceae) cultivadas no Brasil**. Tese do Programa de Pós-Graduação - Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2020.

SILVA, R. V. **Extrato dos frutos de *Spondias Purpurea L.* como princípio ativo para formulação fitocosmética fotoprotetora**. Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, Bahia, v. 1, n. 1, p. 1-81, 2015.

SOUSA, C. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quím. Nova**. v. 30, n. 2, 2007.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova** 2007, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA-COELHO, L. C. **Protetor solar: Desenvolvimento farmacotécnico e avaliação da eficácia e segurança**. Dissertação, Universidade Federal de Pernambuco, 2005.

SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; MCMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J.T.; BOKESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M.R. New colorimetric cytotoxicity

assay for anticancer-drug screening. **Journal of National Cancer Institute**, v. 82, n. 13, p. 1107-1112, 1990.

SPÓSITO, B, M *et al.* A cultura do lúpulo. Universidade de São Paulo – USP. Divisão de Biblioteca – DIBD. Piracicaba, 2019.

SPRINGSTEEN, A.; YUREK, R.; FRAZIER, M.; CARR, K. F. *In vitro* measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance. **Analytica Chimica Acta**, v. 380, p. 155– 164, 1999.

SUNG, H. *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: Cancer Journal for Clinicians**, Hoboken, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

TOFETTI, M. H. F. C.; OLIVEIRA, V.R. A importância do uso do filtro solar na prevenção do fotoenvelhecimento e do câncer de pele. **Revista Científica da Universidade de Franca (SP)**, v. 6, n. 1, 2006.

VINHAL, D. C. Planejamento, síntese, caracterização e avaliação de um novo composto candidato a protótipo de fotoprotetor. Dissertação (MESTRADO) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

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

WILD, C. P.; WEIDERPASS, E.; STEWART, B. W. World cancer report: cancer research for cancer prevention. Lyon, France: **International Agency for Research on Cancer**, 2020.

ZANOLI, P.; ZAVATTI, M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. **Journal of ethnopharmacology**, Elsevier BV, p. 383-396, 2008.