



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA



CAROLINNE GOMES DA COSTA

ESTUDO DE FOTOPROTEÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DE PIMENTA ROSA
(*Schinus terebinthifolius* Raddi) EM SOLUÇÃO E NAS FORMULAÇÕES DE
PROTETORES SOLARES

OURO PRETO

2023

CAROLINNE GOMES DA COSTA

**ESTUDO DE FOTOPROTEÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DE PIMENTA ROSA
(*Schinus terebinthifolius* Raddi) EM SOLUÇÃO E NAS FORMULAÇÕES DE
PROTETORES SOLARES**

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

Orientador(a): Prof.^a Dra. Viviane
Martins Rebello dos Santos.

OURO PRETO

2023

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

C837e Costa, Carolinne Gomes da.

Estudo de fotoproteção do extrato etanólico de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi) em solução e nas formulações de protetores solares.. [manuscrito] / Carolinne Gomes da Costa. - 2023.
64 f.: il.: color., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Viviane Martins Rebello dos Santos.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Plantas- Análise. 2. Química vegetal. 3. Fator de Proteção Solar. I. Santos, Viviane Martins Rebello dos. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 615.32

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



FOLHA DE APROVAÇÃO

Carolinne Gomes da Costa

Estudo de fotoproteção do extrato etanólico de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi) em solução e nas formulações de protetores solares

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

Aprovada em 28 de julho de 2023

Membros da banca

Doutorado - Viviane Martins Rebello dos Santos - Orientadora- Universidade Federal de Ouro Preto
Doutorado - Ângela Leão Andrade - Universidade Federal de Ouro Preto
Mestrado - Lucas Resende Dutra Sousa - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas-EFAR-UFOP

Viviane Martins Rebello 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 28/07/2023



Documento assinado eletronicamente por **Viviane Martins Rebello dos Santos, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 27/07/2023, às 16:05, 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 **0563734** e o código CRC **071BF751**.

AGRADECIMENTOS

Estudar na Primeira Escola de Farmácia da América Latina foi mais que um sonho. Primeiramente, gostaria de agradecer à Deus por mais essa conquista.

Agradeço aos meus pais, Guilherme e Herli, por abdicarem dos seus próprios sonhos para que eu tivesse a oportunidade de estudar. Sou muito grata por tudo que vocês fizeram por mim. Aos meus irmãos Melissa e Guilherme Junior, obrigada por todo companheirismo durante essa caminhada. Ao meu avô, Manoel (*in memoriam*) por todo zelo e por me ensinar o que é o amor. Sem vocês eu não conseguiria chegar até aqui.

À UFOP e à EFAR por me proporcionarem grandes aprendizados e um ensino de qualidade. Ao Programa de Educação Tutorial do Curso de Farmácia (PET- Farmácia) e à Liga Acadêmica de Toxicologia (LATOX- UFOP), onde conheci pessoas incríveis que tive o prazer de trabalhar. Tenho muito orgulho em ter feito parte dessas famílias!

Agradeço a minha amiga Keila, por estar comigo antes do início desse sonho. Aos meus amigos que Ouro Preto me proporcionou, só tenho a agradecer pelos momentos que vivemos durante esses anos, tornando tudo mais leve, em especial: Ana Flávia, André, Bárbara, Breno, Bruna, Cynthia, Eduardo, Igor, Ítala, Izabella, Larissa, Marina e Raio. Sem vocês nada disso teria sentido.

Aos meus amigos de Toledo PR, em especial: Bruna, Luiza, Yuri, Isabele, Nathália, Gabriela, Vane e Tainara. Muito obrigada por terem me acolhido.

Aos amigos e professores do laboratório de Produtos Naturais e Síntese Orgânica, em especial, a Prof^ª. Dr^ª. Andréa Mendes do Nascimento e a Prof^ª. Dr^ª. Ângela Leão Andrade que fizeram possível esse projeto.

À minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Viviane Martins Rebello dos Santos, uma excelente profissional, obrigada por ter contribuído com o meu crescimento pessoal e profissional.

RESUMO

A exposição excessiva a radiação UV (ultravioleta) pode causar efeitos crônicos e agudos. Nesse sentido, faz-se necessário o uso de filtros fotoprotetores como medida direcionada a reduzir a exposição ao sol e prevenir os efeitos danosos causados pela radiação solar. A espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi, pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida popularmente como pimenta rosa, aroeira, aroeira-vermelha ou aroeira-da-praia. As propriedades farmacológicas desta espécie são atribuídas aos diferentes tipos de polifenóis distribuídos nas suas cascas, folhas, flores, frutos e sementes. Nesse sentido o presente estudo buscou realizar a triagem fitoquímica do extrato etanólico da pimenta rosa e das frações em diclorometano e hexano, avaliar viabilidade celular, avaliar a atividade fotoprotetora de extrato etanólico de pimenta rosa em solução, do extrato etanólico de pimenta rosa nas frações em hexano e diclorometano e, avaliar a fotoproteção em formulações de Gel de Pemulen TR-1 UVA- UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax. A triagem fitoquímica foi positiva para flavonoides, fenóis/ taninos e terpenoides. As amostras analisadas apresentaram citotoxicidade apenas em concentrações superiores às necessárias para alcançar atividade fotoprotetora e antioxidante, sugerindo a segurança de sua aplicação em concentrações ativas. Ademais, os resultados demonstraram que o extrato analisado apresentou maior atividade fotoprotetora na concentração de 0,1 ug/mL tanto nas soluções quanto na partição líquido-líquido. A maior proteção solar foi verificada na incorporação do extrato etanólico de pimenta rosa em Gel de Pemulen TR-1 na presença de filtro UVA- UVB 5% a qual demonstrou-se eficaz para intensificar o fator de fotoproteção solar.

Palavras-chave: Fator de Proteção Solar (FPS), extratos e pimenta rosa

ABSTRACT

Excessive exposure to UV (ultraviolet) radiation can cause both chronic and acute effects. In this sense, it is necessary to use photoprotective filters as a measure aimed at reducing exposure to the sun and preventing the harmful effects caused by solar radiation. The species *Schinus terebinthifolius* Raddi, belonging to the Anacardiaceae family, is popularly known as pink pepper, mastic, red mastic or beach mastic. The pharmacological properties of this species are attributed to the different types of polyphenols distributed in its bark, leaves, flowers, fruits and seeds. In this sense, the present study sought to carry out the phytochemical screening of the ethanolic extract of pink pepper and the fractions in dichloromethane and hexane, to evaluate cell viability, to evaluate the photoprotective activity of the ethanolic extract of pink pepper in solution, of the ethanolic extract of pink pepper in the fractions in hexane and dichloromethane and, to evaluate the photoprotection in formulations of Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 and Cream Polawax. Phytochemical screening was positive for flavonoids, phenols/tannins and terpenoids. The analyzed samples showed cytotoxicity only at concentrations higher than those necessary to achieve photoprotective and antioxidant activity, suggesting the safety of its application at active concentrations. Furthermore, the results showed that the analyzed extract showed greater photoprotective activity at a concentration of 0.1 ug/mL both in solutions and in the liquid-liquid partition. Greater sun protection was observed when incorporating pink pepper ethanolic extract into Pemulen TR-1 Gel in the presence of a 5% UVA-UVB filter, which proved to be effective in intensifying the sun's photoprotection factor.

Keywords: Sun Protection Factor (SPF), extracts, pink pepper.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração do espectro da luz visível, e radiação ultravioleta. As setas roxas esquematizam o nível de penetração dos raios ultravioletas.	17
Figura 2 – Árvore pimenta rosa.....	23
Figura 3 - Frutos de pimenta rosa.....	24
Figura 4 - Estruturas químicas dos compostos propostos 1–27 presentes no extrato etanólico de pimenta rosa.....	26
Figura 5 - Estrutura química do ácido gálico	31
Figura 6 - Estrutura química dos flavonoides.....	32
Figura 7 - Extrato etanólico de pimenta rosa	34
Figura 8 - Soluções do extrato etanólico de Pimenta rosa nas concentrações de 20 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL, 70 µg/mL e 100 µg/mL	37
Figura 9 - Soluções da partição em hexano nas concentrações de 20 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL, 70 µg/mL e 100 µg/mL.....	38
Figura 10 - Soluções da partição em diclorometano nas concentrações de 20 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL, 70 µg/mL e 100 µg/mL.....	39
Figura 11 - Determinação do FPS do extrato etanólico de pimenta rosa incorporados ao Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax.....	42
Figura 12 - Formulação do extrato etanólico de pimenta rosa em Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%	46
Figura 13 - Formulação do extrato etanólico de pimenta rosa em Gel Pemulen TR-1	46
Figura 14 - Formulação de extrato etanólico de pimenta rosa em Creme Polawax	47
Figura 15 - Formulação da fração em diclorometano em Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%	47
Figura 16 - Formulação da fração em diclorometano em Gel Pemulen TR-1	47
Figura 17 - Formulação da fração em diclorometano incorporado em Creme Polawax.....	48
Figura 18 - Viabilidade celular dos extratos em células de fibroblastos L929 após 24h de tratamento com Extrato Etanólico, Partição em diclorometano e PRFr5.....	51
Figura 19 - Viabilidade celular dos extratos em células de fibroblastos L929 após 48h de tratamento com Extrato Etanólico, Partição em diclorometano e PRFr5.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Estruturas químicas dos compostos propostos 1–27 presentes no extrato etanólico de pimenta rosa.....	28
Tabela 2- Análise fitoquímica do extrato etanólico de pimenta rosa, fração em diclorometano da partição e fração em hexano da partição.....	43
Tabela 3- Valores de FPS (média \pm desvio padrão) do extrato etanólico de pimenta rosa.	44
Tabela 4- Valores de FPS (média \pm desvio padrão) das frações em hexano e diclorometano	45
Tabela 5- Valores de FPS das subfrações isoladas do fracionamento da fração em diclorometano da pimenta rosa.....	45
Tabela 6- Valores de FPS (média \pm desvio padrão) do extrato etanólico de pimenta rosa incorporado ao Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax e seus respectivos controles negativos	49
Tabela 7- Valores de FPS (média \pm desvio padrão) da fração em diclorometano incorporado ao Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax e seus respectivos controles negativos	49

LISTA DE SIGLAS

A/O	Água em óleo
ABS	Absorção
ABTS	3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CHCl₃	Clorofórmio
DMEnp	Dose mínima eritematosa pele desprotegida
DMEp	Dose mínima eritematosa pele protegida
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EE	Efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda
FC	Fator de correção
FeCl₃	Cloreto férrico
FPS	Fator de proteção solar
FPUVA	Fator de proteção UVA
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
H₂SO₄	Ácido sulfúrico
I	Intensidade do Sol no comprimento de onda
NaOH	Hidróxido de sódio
O/A	Óleo em água
OMS	Organização Mundial de Saúde
q.s.p	Quantidade suficiente para
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RNA	Ácido ribonucleico

SUS	Sistema Único de Saúde
TiO₂	Dióxido de titânio
UFOP	Universidade Federal de Ouro Preto
UPLC-QTOF-MS/MS	Cromatografia líquida de ultra performance
UV	Ultravioleta
UV – Vis	Ultravioleta visível
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
UVC	Ultravioleta C
ZnO	Óxido de Zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

λ	Comprimento de onda
π	Pi
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Justificativa.....	14
1.2. Referencial Teórico	15
1.2.1. A exposição à radiação solar e seus efeitos	15
1.2.1.1. Radiação Ultravioleta.....	15
1.2.2. Fotoproteção	17
1.2.2.1. Definição	17
1.2.2.2. Fotoprotetores.....	17
1.2.2.3. Legislação.....	18
1.2.3. Filtro solar.....	18
1.2.3.1. Filtros UV.....	18
1.2.3.2. Filtros orgânicos.....	18
1.2.3.3. Filtros inorgânicos.....	19
1.2.4. Eficácia de um protetor solar	20
1.2.5. Obtenção do FPS pelo método <i>in vitro</i> de Mansur e colaboradores.....	20
1.2.6. Produtos naturais e fotoproteção.....	21
1.2.7. <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	21
1.2.7.1. Descrição.....	21
1.2.7.2. Distribuição geográfica	22
1.2.7.3. Aspectos botânicos.....	22
1.2.7.4. Usos medicinais.....	24
1.2.7.5. Composição química	25
1.2.7.5.1. Compostos fenólicos	29
1.2.7.5.2. Taninos e ácido gálico	30
1.2.7.5.3. Flavonoides.....	31

2. OBJETIVOS.....	33
2.1. Objetivo geral	33
2.2. Objetivos específicos	34
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1. Materiais utilizados	34
3.2. Preparação do extrato etanólico de pimenta rosa	34
3.2. Preparação da extração líquido-líquido utilizando hexano e diclorometano.....	35
3.3. Fracionamento da partição em diclorometano.....	35
3.4. Triagem fitoquímica	36
3.4.1. Teste para flavonoides (Teste de reagente alcalino).....	36
3.4.2. Teste para fenóis/ taninos (Teste de cloreto férrico).....	36
3.4.3. Teste para saponinas (Teste de espuma).....	36
3.4.4. Teste para terpenoides (Teste de Salkowski).....	36
3.4.5. Teste para carboidratos (Teste de iodo).....	37
3.4.6. Teste de antraquinonas (Teste de Borntrager)	37
3.4.7. Teste de alcaloides (Teste de Dradendorff)	37
3.5. Preparo das soluções do extrato etanólico de pimenta rosa	37
3.6. Preparo das soluções das partições do extrato etanólico de pimenta rosa.....	38
3.7. Preparo das formulações solares comerciais contendo extrato etanólico de pimenta rosa	39
3.8. Preparo das formulações contendo a fração em diclorometano de pimenta rosa.....	40
3.9. Determinação do FPS do extrato utilizando espectrofotômetro de UV	41
3.10. Viabilidade celular	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1. Triagem fitoquímica	43
4.2. Determinação de FPS do extrato etanólico de pimenta rosa	43
4.3. Determinação do FPS das frações em hexano e diclorometano.....	44

4.4. Formulações fotoprotetoras incorporadas com extrato etanólico de pimenta rosa e incorporadas com a fração em diclorometano	46
4.5. Determinação do FPS do extrato etanólico de pimenta rosa e da fração em diclorometano incorporados à formulação fotoprotetora de Gel Pemulen TR-1 UVA- IVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax.....	49
4.6. Viabilidade celular.....	50
5. CONCLUSÃO	53
6. REFERÊNCIAS	54

1. INTRODUÇÃO

A utilização da natureza para fins terapêuticos é tão antiga quanto a civilização humana e, por muito tempo, produtos minerais, de plantas e animais foram fundamentais para a área da saúde. Nesse sentido, as plantas medicinais são importantes como fitoterápicos e na descoberta de novos fármacos, estando no reino vegetal a maior contribuição de medicamentos. (BRASIL, 2012)

Nessa perspectiva, a Organização Mundial de Saúde (OMS) define plantas medicinais como sendo todo e qualquer vegetal que possui em seus órgãos substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos para prevenir, aliviar, curar ou modificar processos fisiológicos e patológicos, ou que sejam empregadas como precursores de fármacos semissintéticos. (WHO, 1998)

A espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi, pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida popularmente como pimenta rosa, aroeira, aroeira-vermelha ou aroeira-da-praia. (CARVALHO *et al.*, 2013) É uma pimenteira com ampla distribuição geográfica, originária da América do Sul e nativa do Brasil, Paraguai, Uruguai além do Leste da Argentina. (LORENZI *et al.*, 2002)

As aplicações da pimenta rosa são conhecidas há muitos anos sendo suas propriedades descritas na Primeira Edição da Farmacopeia Brasileira, em 1926. (BRASIL, 1926) Possui uso na culinária, essencialmente para acrescentar sabor e refinamento aos pratos da culinária mundial. (DEGÁSPARI *et al.*, 2005) No Brasil ela é empregada na medicina popular devido as suas propriedades farmacológicas. (SANTOS CTC, *et al.*, 2019)

As propriedades farmacológicas desta espécie são atribuídas aos diferentes tipos de polifenóis distribuídos nas suas cascas, folhas, flores, frutos e sementes. Inúmeros estudos comprovam a ação antioxidante dos frutos da aroeira-vermelha, associando-a com sua composição química rica compostos fenólicos, como os flavonoides, componentes responsáveis em grande parte pela fotoproteção de protetores solares a base de extratos naturais. (SANTOS CTC, *et al.*, 2019) Ademais, há relatos na literatura que comprovam a ação da pimenta rosa como antimicrobiana, anti-inflamatória, antiulceroso, antirreumático, antidiarreico e adstringente.

A pele apresenta as funções de barreira protetora contra radiações solares, sendo considerada como o maior órgão do corpo humano. (RIBEIRO, 2006) No entanto, o contato constante de radiação ultravioleta (UV) sob a pele pode causar danos significativos à saúde do

ser humano podendo ser considerados agudos e crônicos. Os efeitos agudos relacionam-se a queimaduras, elevação da temperatura da pele, espessamento, bronzeamento e produção de vitamina D. No entanto, os efeitos crônicos são fotoenvelhecimento e câncer da pele. (SBD,2013) Nesse sentido, faz-se necessário a utilização de filtros solares para a proteção da radiação ultravioleta.

Nessa perspectiva, as formulações cosméticas incorporando produtos naturais, como nos filtros solares, tem ganhando grande viabilidade nos últimos anos. Uma vez que os compostos naturais podem substituir ou potencializar os filtros sintéticos protegendo a pele dos efeitos deletérios causados pela radiação solar. Nesse sentido, em comparação com os filtros sintéticos, os filtros naturais apresentam reduzidos efeitos colaterais e menor agressividade ao meio ambiente. (FERRARI *et al.*, 2007) No Brasil, o desenvolvimento de produtos com maior número de componentes de origem natural, especificamente os de origem vegetal, com propósito medicinal e cosmético é uma tendência de mercado, o que, aliada à variedade vegetal encontrada no país, promove uma abrangente área a ser explorada cientificamente. (ALMEIDA; JUNIOR, 2013)

Nesse contexto produtos naturais ricos em flavonoides possuem grande relevância, tendo em vista que este possui capacidade fotoprotetora uma vez que suas estruturas químicas são capazes de absorver na faixa UV. Sendo assim, o presente estudo visa realizar uma análise fitoquímica da pimenta rosa, analisar a ação fotoprotetora do extrato etanólico de pimenta rosa em soluções e em formulações fotoprotetoras, além de avaliar a viabilidade celular atribuída à aroeira, podendo contribuir para o desenvolvimento de um produto fotoprotetor inovador.

1.1. Justificativa

A exposição prolongada à radiação solar pode provocar danos irreparáveis que vão desde queimaduras solares até o câncer de pele. Assim, apesar da pele oferecer uma proteção contra a radiação solar, essa proteção não é o suficiente. Portanto, o uso de filtros solares tornou-se indispensável nos dias atuais. (DE PAOLA, 2001)

A busca pela proteção contra a radiação solar iniciou-se quando os efeitos nocivos do sol se tornaram mais conhecidos e divulgados. Paralelamente, novos produtos são constantemente desenvolvidos objetivando aumentar a proteção contra raios solares. (SS. MILESE *et al.*,2002)

Considerando a necessidade do uso de filtros solares contra os efeitos maléficos da radiação solar, bem como a tendência de produtos naturais no novo mercado de cosméticos, a realização deste trabalho é justificada por buscar uma nova alternativa de protetor solar a base natural. Este trabalho concentra esforços no estudo de fotoproteção (FPS) de extrato etanólico de pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi) em soluções e em formulações de protetores solares a base de Gel de Pemulen TR-1 e Creme Polawax.

1.2.Referencial Teórico

1.2.1. A exposição à radiação solar e seus efeitos

1.2.1.1. Radiação Ultravioleta

Segundo a RDC N° 629 de 10 de março de 2022, compreende-se que a radiação ultravioleta é a região do espectro eletromagnético emitido pelo sol compreendida entre os comprimentos de ondas de 200 a 400 nm, dividida em três faixas: UVC (200 a 290 nm), UVB (290 a 320 nm) e UVA, a qual é subdividida em duas faixas, UVA I (340 a 400 nm) e UVA II (320 a 340 nm) (BRASIL, 2022).

É sabido que a radiação UV apresenta efeitos benéficos para a saúde. Esta estimula a produção da vitamina D3 (colecalfiferol), envolvida no metabolismo ósseo e no funcionamento do sistema imunológico, e é utilizada no tratamento de doenças de pele como psoríase e vitiligo. Ademais, a exposição regular do paciente à radiação UV caracteriza a fototerapia, a qual pode ser usada em conjunto com alguns medicamentos com intuito de aumentar a sensibilidade do paciente à radiação, promovendo melhora no quadro de determinadas doenças dermatológicas. (SGABI. *et al.*, 2007)

Por outro lado, a radiação UV é absorvida por diversos cromóforos na pele, tais como: melanina, DNA, RNA, proteínas, aminoácidos aromáticos, como a tirosina e o triptofano, ácido urocânico, entre outros. A absorção da radiação UV pelos cromóforos gera reações fotoquímicas diferentes e interações secundárias, envolvendo espécies reativas do oxigênio, que resulta em efeitos prejudiciais quando se trata de exposição em excesso. (ARAUJO E SOUZA, 2008)

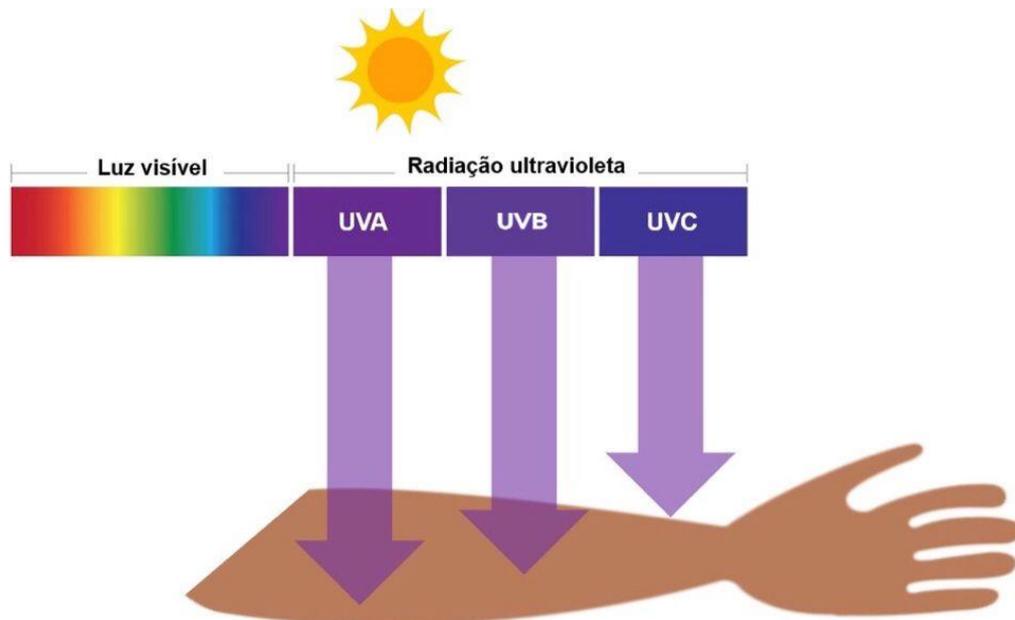
Associam-se à radiação UVA aquela que representa cerca de 90 % da radiação solar que nos atinge, é considerada a radiação que apresenta maior comprimento de onda e desta forma

são menos energéticas sendo capazes de penetrar mais profundamente na pele, atingindo a derme. As radiações UVA são as responsáveis pelo bronzeado, envelhecimento cutâneo precoce e doenças fotossensíveis (ARAUJO E SOUZA, 2008). A exposição contínua à radiação UVA aumenta os níveis de neoplasias cutâneas, podendo ocorrer necrose de células endoteliais, danificando os vasos sanguíneos presentes na derme. (SVOBODAVA *et al.*, 2003)

A radiação UVB representa apenas 5 % da radiação solar. Possui um menor comprimento de onda e desta forma é mais energética, sendo assim por apresentar alta energia, a radiação UVB é responsável pelos danos agudos e crônicos à pele, como manchas, queimaduras, descamação e câncer de pele. (ARAUJO E SOUZA, 2008)

Nesse cenário, diferentemente da radiação UVC, que é absorvida na atmosfera pelos gases estufas, as radiações UVA e UVB são menos filtradas na atmosfera, e conseqüentemente, estão relacionadas à maior parte dos efeitos nocivos da radiação solar. (SANTOS, 2021) Sendo assim, é possível afirmar que as radiações UVA e UVB são importantes no ponto de vista biológico, pois podem causar queimaduras, envelhecimento cutâneo precoce e cânceres. (ARAUJO e SOUZA, 2008) Assim, o uso de protetores solares é fundamental para diminuir os efeitos danosos da radiação ultravioleta sobre a pele, tornando indispensável o uso de filtros solares.

Figura 1 - Ilustração do espectro da luz visível, e radiação ultravioleta. As setas roxas esquematizam o nível de penetração dos raios ultravioletas.



Fonte: CIÊNCIAS SOB TENDAS

1.2.2. Fotoproteção

1.2.2.1. Definição

Os protetores solares são definidos segundo a RDC N° 629 de 10 de março de 2022, 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, 2022)

1.2.2.2. Fotoprotetores

Os protetores solares são preparações cosméticas que possuem formas de apresentação diversas. Podem ser encontrados na forma de loções hidroalcoólicas, óleos, géis, emulsões óleo em água (O/A), emulsões água em óleo (A/O), bastões e aerossóis. (BARON, et al., 2008)

A utilização de protetores solares, é a principal abordagem cosmética contra os efeitos nocivos da radiação UV. Estudos diversos evidenciam que o uso adequado e regular de fotoprotetores reduz o número de casos de queratose actínica e carcinoma de células escamosas. Adicionalmente, o uso regular de fotoprotetores evita o envelhecimento precoce da pele (PALM *et al.*, 2007).

1.2.2.3. Legislação

No Brasil, os protetores solares são regidos por duas legislações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA): RDC N° 629, de 10 de março de 2022 e RDC N° 69 de 23 de março de 2016.

A RDC N° 629, de 10 de março de 2022 estabelece definições, requisitos técnicos, critérios de rotulagem e métodos de avaliação de eficácia relacionados a protetores solares e produtos multifatoriais. Sendo assim, segundo a legislação, os protetores solares devem apresentar os seguintes requisitos:

- (i) FPS de no mínimo 6;
- (ii) Fator de Proteção UVA (FPUVA) cujo valor corresponda, no mínimo, 1/3 do valor de FPS declarado na rotulagem;
- (iii) Comprimento de onda crítico mínimo de 370 nm. (BRASIL, 2022)

Ademais, a RDC N° 69 de 23 de março de 2016 determina os filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. (BRASIL, 2016)

1.2.3. Filtro solar

1.2.3.1. Filtros UV

Filtros UV são aquelas substâncias com a capacidade de interagir com a radiação UV refletindo-a ou absorvendo-a e, conseqüentemente evitando seus efeitos sobre a pele. Podem ser divididos em filtros orgânicos e inorgânicos. (SANTOS, J.N, 2021) Em geral, os compostos orgânicos agem via absorção e os inorgânicos através da reflexão dos raios UV. (NASCIMENTO.L.F. *et al.*, 2014)

1.2.3.2. Filtros orgânicos

Os filtros orgânicos são moléculas capazes de absorver radiação UV e transformá-la em radiações energéticas inócuas ao ser humano. Os protetores orgânicos são formados por moléculas orgânicas que possuem como característica a absorção de um ou mais comprimentos de onda específicos, transformando-o em outro tipo de energia. (ARAUJO e SOUZA, 2008)

As estruturas moleculares dos fotoprotetores orgânicos apresentam anéis benzênicos contendo pelo menos dois grupos substituintes nas posições orto ou para, sendo um grupo doador de elétrons e o outro aceptor de elétrons. Esses substituintes são responsáveis pelo efeito batocrômico e assim, absorvem na região do UV. (NASCIMENTO.L.F. *et al.*, 2014).

O mecanismo de ação dos filtros orgânicos envolve a absorção da radiação UV e, em seguida, a excitação do orbital π HOMO (orbital molecular preenchido de mais alta energia) para o orbital π^* LUMO (orbital molecular vazio de mais baixa energia). Tais moléculas, ao retornarem aos seus estados fundamentais, liberam o excesso de energia absorvida na forma, por exemplo, de calor. Estas moléculas são divididas em filtros UVA, que exercem proteção frente à radiação UVA, filtros UVB, que exercem proteção frente à radiação UVB, e filtros de amplo espectro, que promovem proteção contra radiação UVA e UVB. (FLOR *et al.*, 2007)

1.2.3.3.Filtros inorgânicos

Os protetores solares inorgânicos agem como uma barreira física que não permite a passagem da radiação. Sendo assim, os processos de proteção solar envolvem tanto a absorção quanto o espalhamento da radiação apresentando inespecificidade quanto às radiações UVA e UVB. (ARAUJO e SOUZA, 2008)

O mecanismo de proteção solar dos filtros inorgânicos é principalmente a reflexão da radiação pelas partículas inorgânicas dispersas no filtro, havendo relação fundamental entre o diâmetro da partícula e o comprimento da onda da luz incidente sobre ela. (FLOR *et al.*, 2007)

Os filtros inorgânicos utilizados e aprovados pela ANVISA são dióxido de titânio (TiO_2) e óxido de zinco (ZnO) em concentração máxima de 25% da formulação. Por terem uma baixa toxicidade e apresentarem uma alta efetividade, seu uso vem sendo mais frequente nos últimos anos, porém, podem proporcionar efeito esbranquiçado na pele, efeito indesejável para a indústria cosmética. (FLOR *et al.*, 2007)

1.2.4. Eficácia de um protetor solar

A avaliação da eficácia de um filtro solar tendo em vista a proteção da pele dos efeitos maléficos da radiação UV é medido através do FPS que segundo a RDC nº 629 de 10 de março de 2022 é definido por:

“Valor obtido pela razão entre a dose mínima eritematosa em uma pele protegida por um protetor solar (DMEp) e a dose mínima eritematosa na mesma pele quando desprotegida (DMEnp).” (BRASIL, 2022).

1.2.5. Obtenção do FPS pelo método *in vitro* de Mansur e colaboradores

A metodologia *in vitro* de Mansur e colaboradores permite determinar o FPS em protetores solares, utilizando a espectrofotometria, sem a utilização de voluntários. Se baseia na análise do espectro de absorção ou de transmissão da radiação UV de soluções diluídas dos fotoprotetores em solvente adequado. Dessa forma, a metodologia de Mansur e colaboradores, permite determinar as bandas de absorção da amostra e assim, estabelecer se aquele extrato tem a possibilidade de agir como protetor solar. (NASCIMENTO *et al.*, 2009)

Segundo a equação proposta em 1986 por Mansur em sua publicação “Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria” tem-se, que:

Equação 01- Método de Mansur e colaboradores

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

Onde:

FPS = Fator de Proteção Solar;

FC = Fator de correção;

EE(λ) = Efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda (λ);

I(λ) = Intensidade do Sol no comprimento de onda (λ);

$Abs(\lambda)$ = Leitura espectrofotométrica da absorvância da solução do filtro solar no comprimento de onda (λ). (MANSUR *et al.*, 1986)

1.2.6. Produtos naturais e fotoproteção

Extratos vegetais são misturas obtidas por procedimento de extração em amostras vegetais. A 6ª edição da Farmacopeia Brasileira de 2019 define extratos 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 desengorduramento. Após a extração, materiais indesejáveis podem ser eliminados.”
(BRASIL, 2019)

O estudo de compostos de origem natural está se intensificando nos últimos anos, uma vez que eles constituem uma valiosa fonte de recursos, como os compostos fenólicos. Nesse sentido, atualmente, pesquisas têm sido realizadas com intuito de desenvolver protetores solares formulados de produtos naturais. (ALMEIDA; JUNIOR, 2013)

Portanto, a incorporação de um produto natural junto a uma formulação fotoprotetora é uma das alternativas para promover o aumento do FPS sem deixar a formulação com caráter irritante. Visto que os filtros solares existentes apresentam impactos significativos à saúde humana de forma que os oxibenzonas, bloqueadores orgânicos utilizados em filtros UV, quando são absorvidos pela pele podem ocasionar um desequilíbrio hormonal, levando a uma série de complicações. (FERNANDES *et al.*, 2011)

1.2.7. *Schinus terebinthifolius* Raddi

1.2.7.1. Descrição

Schinus terebinthifolius Raddi pertence à família Anacardiaceae, possui diversos nomes populares que variam de acordo com a região e cultura local, podemos citar nomes como pimenta rosa, aroeira- vermelha, aroeira- da- praia, cambuí, entre outros. (GILBERT. B; FAVORETO. R, 2011)

Atualmente, a pimenta rosa vem se destacando tanto na área culinária como na medicina popular, devido a presença de polifenóis em sua composição. Seu consumo tem aumentado muito, tanto para o mercado internacional como para o nacional, que os utilizam como condimento alimentar. (LENZI e ORTH, 2004) As aplicações biológicas dessa planta são conhecidas há muitos anos, e suas propriedades foram descritas desde a primeira edição da Farmacopeia Brasileira, publicada em 1926. (BRASIL, 1926)

1.2.7.2. Distribuição geográfica

A *Schinus terebinthifolius* Raddi é uma espécie originária da América do Sul e nativa do Brasil, Paraguai, Uruguai além do Leste da Argentina. (LORENZI *et al.*, 2002) Ademais, é considerada uma árvore típica da caatinga nordestina, a qual ganhou reconhecimento devido a sua capacidade ornamental, riquezas de nutrientes e efeitos farmacológicos. (SANTOS *et al.*, 2004).

Embora mais frequente ao longo do litoral brasileiro desde o Ceará até o Sul do país, segundo Silva-Luz e Pirani (2012), a espécie é encontrada nos seguintes estados brasileiros: Piauí, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Bahia, Alagoas e Sergipe (Nordeste); Mato Grosso do Sul (Centro-Oeste); Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo e São Paulo (Sudeste); e Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Sul).

1.2.7.3. Aspectos botânicos

Uma árvore ornamental, dioica medindo de 5 a 10 metros de altura. Copa larga, o tronco pode chegar de 30 a 60cm de diâmetro com cascas grossas, mas é frequentemente menor em encostas e solos mais pobres. Folhas compostas com três a dez pares de folíolos imparipinados, aromáticos, medindo de 3 a 5 centímetros de comprimento por 2 a 3 centímetros de largura. Flores pequenas, masculinas e femininas, em panículas piramidais. Seus frutos são pequenos e arredondados, são de um vermelho vivo, conferindo uma beleza notável à árvore (LORENZI *et al.*, 2008).

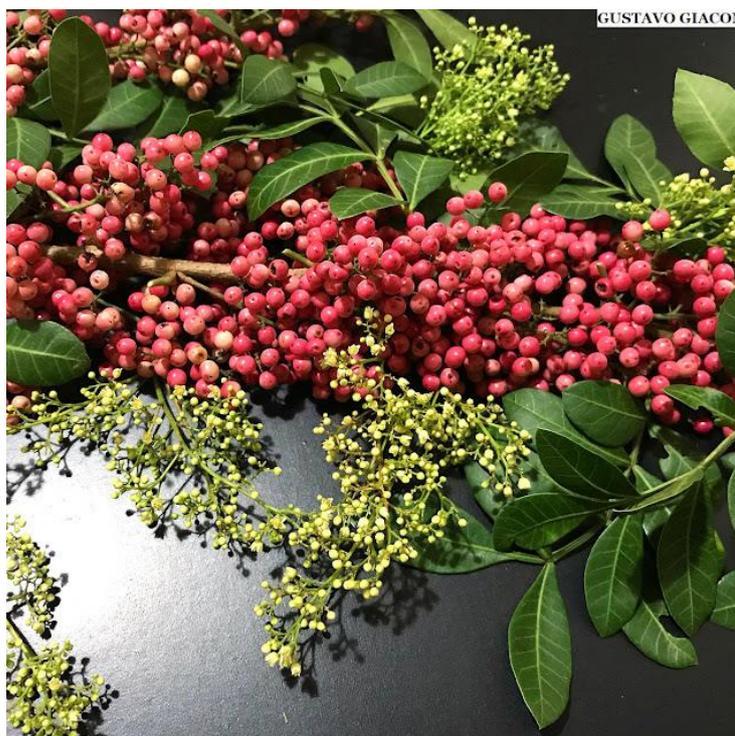
Figura 2 – Árvore pimenta rosa



Fonte: AGOECONOMIA, 2019

A folha é hipoestomática com estômatos anomocíticos e cutícula estriada, tricomas tectores unicelulares e glandulares capitados pluricelulares. A nervura central exibe vários feixes vasculares colaterais em arranjo cêntrico. Observa-se um cilindro floemático externo ao xilemático no caule com cristais de oxalato de cálcio e canais secretores associados ao floema, estruturas essas coerentes com os atributos de Anacardiaceae. (LENZI e ORTH, 2004)

Figura 3- Frutos de pimenta rosa



Fonte: GIACON, 2019

1.2.7.4. Usos medicinais

No Brasil, há relatos antigos sobre a utilização da pimenta rosa na medicina popular, sendo empregada no tratamento de várias doenças devido as suas propriedades cicatrizantes, antimicrobiana, anti-inflamatória, antiulceroso, antirreumático, antidiarreico, antioxidante e adstringente. (BRASIL, 2021)

Na medicina popular as preparações das cascas são usadas tradicionalmente contra diarreia, como adstringente, em doenças do sistema urinário e em banho contra reumatismo (MORTON,1978; BRANDÃO *et al.*, 2008). As folhas são usadas diretamente em cataplasmas sobre úlceras e em forma de decocção sobre feridas. As infusões são usadas para alívio de doenças respiratórias. São empregadas também contra gota, artrite, problemas intestinais e dérmicos. (MORTON, 1978).

Apesar do uso popular como uma planta medicinal, a pimenta rosa tem mostrado grande potencial para o desenvolvimento de produtos fitoterápicos. Tal fato é comprovado devido à presença de diversos compostos fenólicos presentes nas cascas, folhas e frutos da planta. (DEGÁSPARI *et al.*, 2005). Nesse contexto, diversos estudos foram realizados a fim de testar atividades farmacológicas relacionadas a pimenta rosa. Entre os estudos publicados, a atividade

antimicrobiana foi amplamente estudada contra diferentes cepas de microrganismos, entre os quais podemos citar *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *C. albicans*, a qual a pimenta rosa obteve potencial atividade biológica. Ademais, a pimenta rosa também foi estudada contra microrganismos que causam infecção endodôntica, como *E. faecalis* por Costa e colaboradores em 2012 comprovando sua ação para tal uso. (DEGÁSPARI *et al.*, 2005; BERNARDES NR, 2010; SILVA, 2009; SILVA AG, *et al.*, 2010; COSTA EM *et al.*, 2006)

Estudos demonstraram que o extrato hidroalcoólico das folhas de *S. terebinthifolius* exibiu importantes propriedades anti-inflamatórias na pleurisia e artrite, incluindo uma inibição acentuada do influxo de neutrófilos e redução de mediadores inflamatórios (ROSAS *et al.*, 2015). Muitos experimentos mostraram que *S. terebinthifolius* pode ter potencial como fitoterápico para o tratamento de condições inflamatórias (ULIANA *et al.*, 2016), comprovando, assim, as propriedades anti-inflamatórias associadas à pimenta rosa.

A atividade antioxidante também foi estudada para a *S. terebinthifolius*. Essa atividade, possivelmente pode estar ligada aos constituintes químicos dessa espécie, especialmente aos compostos fenólicos. Estudos de Lima e cols. (2006) demonstraram que fitoquimicamente, o extrato etanólico da casca e folhas de *S. terebinthifolius* revelou a presença de compostos fenólicos, como os flavonoides. (LIMA *et al.*, 2006) Nessa perspectiva, os compostos fenólicos possuem efeito positivo na saúde, em partes por meio de seus efeitos antioxidantes e de eliminação de radicais livres, protegendo assim os componentes celulares contra os danos induzidos pelos radicais livres, uma vez que possuem a capacidade de absorver a radiação ultravioleta. (SOUZA *et al.*, 2015) Nesse sentido, em relação à capacidade antioxidante atribuído à pimenta rosa, estudos demonstraram que o extrato de aroeira apresentou potencial antioxidante nos ensaios de DPPH, FRAP e ABTS. (LIMA *et al.*, 2006)

Sendo assim a presença de fitoquímicos com propriedades funcionais e a capacidade antioxidante da aroeira indicam seu uso como potencial antioxidante natural para a indústria cosmética. Dessa forma, *Schinus terebinthifolius* Raddi está inserida na Relação Brasileira de Medicamentos Essenciais (RENAME,2017), no qual existem 71 plantas medicinais que poderiam gerar produtos de interesse do Sistema Único de Saúde (SUS). (BRASIL, 2017).

1.2.7.5.Composição química

O metabolismo vegetal compreende o conjunto de reações químicas, que visam ao aproveitamento de nutrientes e, que continuamente estão ocorrendo em cada célula. Os

compostos químicos formados, degradados, ou transformados por essas reações são chamados de metabólitos. (SANTOS, 2001) As espécies vegetais são capazes de produzir, transformar e acumular inúmeras substâncias de natureza química e propriedades diversas, como flavonoides, taninos, terpenos, saponinas e alcaloides, as quais apresentam atividades biológicas. (VON POSER, 2001; SANTOS, 2001; PARANHOS, 2005).

Nesse sentido, os estudos fitoquímicos compreendem as etapas de extração, fracionamento, isolamento, elucidação estrutural e identificação dos constituintes mais importantes do vegetal, principalmente de substâncias originárias do metabolismo secundário, responsáveis pela ação biológica (SONAGLIO *et al.*, 2001). O interesse pela pimenta rosa se dá pelo seu metabolismo secundário no qual encontra-se diversos compostos ativos. Os estudos fitoquímicos de *S. terebinthifolius* detectaram a presença de compostos fenólicos simples, flavonoides e taninos (JORGE; MARKMANN, 1996; QUEIRES; RODRIGUES, 1998; LIMA *et al.*, 2006).

Segundo estudo publicado por Pinto, *et al.*, 2020, por meio da técnica de cromatografia líquida de ultra performance (UPLC-QTOF-MS/MS) foi possível identificar os componentes do extrato etanólico de pimenta rosa. Os componentes caracterizados foram classificados em três grupos: derivados do ácido gálico, flavonoides e catequinas. O mesmo estudo comprovou a presença de 27 compostos fenólicos no extrato etanólico de pimenta rosa (Figura 4 e Tabela 1). Ademais, foi certificado que alcaloides, antraquinonas, carboidratos e saponinas se demonstraram ausentes na análise fitoquímica do extrato etanólico de pimenta rosa. (PINTO.*et al.*, 2020).

Figura 4 - Estruturas químicas dos compostos propostos 1–27 presentes no extrato etanólico de pimenta rosa

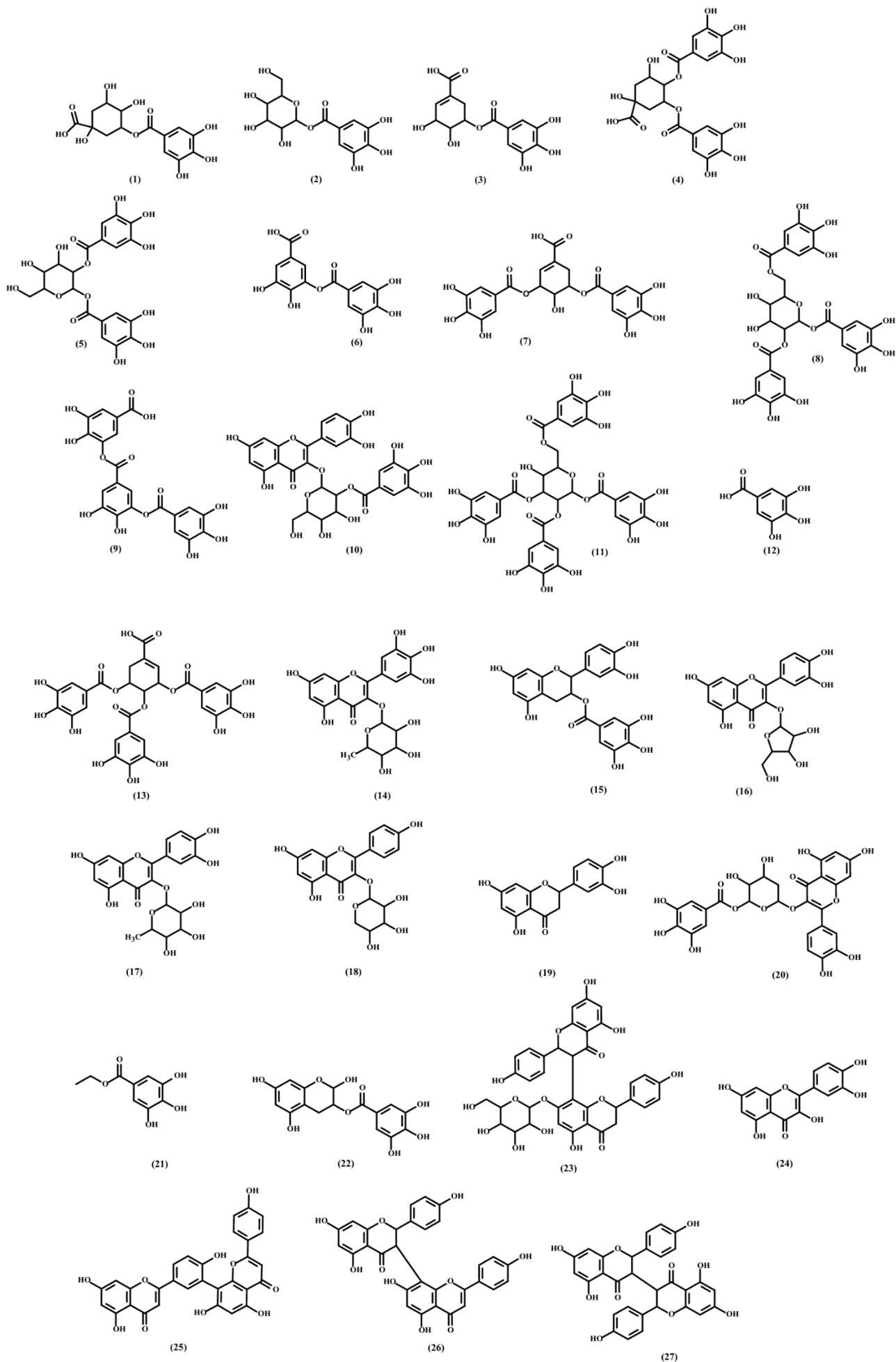


Tabela 1- Estruturas químicas dos compostos propostos 1–27 presentes no extrato etanólico de pimenta rosa

Número	Fórmula	Nomenclatura
1	C ₁₄ H ₁₆ O ₁₀	Theogallin
2	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	Glucogalina
3	C ₁₄ H ₁₄ O ₉	Ácido 5-galoilshiquímico
4	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₄	Ácido 3,4-Di-O-galoilquínico
5	C ₂₀ H ₂₀ O ₁₄	1,2-Digaloil-β-D-glucopiranoose
6	C ₁₄ H ₁₀ O ₉	Ácido digalico
7	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	Ácido 3,5-Di-O-galoilshiquímico
8	C ₂₇ H ₂₄ O ₁₈	1,2,6-Trigaloil-β-D-glucopiranoose
9	C ₂₁ H ₁₄ O ₁₃	Ácido trigálico
10	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	2"-O-Galoilhiperina
11	C ₃₄ H ₂₈ O ₂₂	1,2,3,6-Tetragaloil-β-D-glucopiranoose
12	C ₇ H ₆ O ₅	Ácido gálico
13	C ₂₈ H ₂₂ O ₁₇	Ácido trigaloilshiquímico
14	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Miricitrina
15	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	Catequina 3-O-galato
16	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	Avicularina
17	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	Quercitrina
18	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	Kaempferol 3-O-α-L-arabinopiranosídeo
19	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	Eriodictiol
20	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₅	Quercetina 3-(2'-galoil-α-L-arabinopiranosídeo)
21	C ₉ H ₁₀ O ₅	Galato de etila

22	$C_{16}H_{14}O_9$	2,3,5,7-Tetrahidroxicroman-3-O-galato
23	$C_{36}H_{32}O_{15}$	Fukugentin-7"-glicose
24	$C_{15}H_{10}O_7$	Quercetina
25	$C_{30}H_{18}O_{10}$	Amentoflavona
26	$C_{30}H_{20}O_{10}$	Volkensiflavona
27	$C_{30}H_{22}O_{10}$	Isochamaejasmina

Fonte: PINTO *et al.*, 2020

1.2.7.5.1. Compostos fenólicos

Compostos fenólicos constituem uma mistura complexa de produtos originados do metabolismo secundário de plantas, que diferenciam em estrutura química e reatividade. Quimicamente, são estruturas constituídas por anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxil substituintes no anel, incluindo os seus derivados funcionais. (SHAHIDI e NACZK, 1995).

Os compostos fenólicos são encontrados em todas as partes dos vegetais, mas estão distribuídos em quantidades diferentes em cada uma delas, podendo variar de acordo com a espécie. O tipo e variedade de polifenóis variam com o estágio do desenvolvimento da planta, grau de maturação, condições ambientais, solo, manejo, processamento e armazenamento da matéria-prima. (SILVA, 2003).

O número e a diversidade destes compostos necessitam de eficientes métodos de determinação e análise. A escolha do método de extração depende dos tipos de compostos presentes no extrato e do tipo de análise. O objetivo de uma extração é de se obter um extrato enriquecido com todos os componentes de interesse e livre de componentes interferentes. (BERTOLDI, 2006) O método de extração e a escolha do solvente são pontos de grande importância, uma vez que solubilidade limitada e modificações químicas durante a extração podem comprometer a veracidade dos dados obtidos, além de alterar a atividade de certas substâncias. (SHAHIDI e NACZK, 2001) Em geral, diversos tipos de solventes de diferentes polaridades são comumente utilizados na extração de polifenóis como água, acetato de etila e misturas aquosas de etanol, metanol e acetona. (SKERGET *et al.*, 2005) Ademais, a temperatura

utilizada durante a secagem e extração afeta a estabilidade dos compostos devido à degradação química, térmica e enzimática, sendo um ponto crítico no conteúdo fenólico (IBANEZ *et al.*, 1999).

Dentre os compostos oriundos do metabolismo secundário encontrado na *S. terebinthifolius*, encontra-se compostos fenólicos ativos como: galato de etila, galato de metila, quercetina e miricetina, sendo os dois últimos flavonoides. (FEUEREISEN *et al.*, 2014)

Os compostos fenólicos apresentam atividade antioxidante, uma vez que, podem agir neutralizando radicais livres em lipídios e ao DNA, devido a capacidade de óxido-redução, auxiliando os mecanismos de defesa endógena contra as espécies reativas de oxigênio que, comprovadamente, podem trazer malefícios para a célula. (DEGÁSPARI, 2004) Os radicais livres são espécies químicas de um ou mais átomos associados, no qual possuem um elétron desemparelhado em seu orbital mais externo, resultando em uma alta instabilidade energética e cinética, e para que sejam mantidos estáveis, se faz necessário que ocorra, ou uma oxidação desse elétron ou a redução de outro substrato, trazendo um elétron para a última camada da órbita do átomo, levando a oxidação desse outro substrato. Os radicais livres são produzidos naturalmente durante o metabolismo do oxigênio. (YASHIN, 2017; NIMSE, 2015)

Os antioxidantes por sua vez, podem ser qualquer molécula ou substância, que em baixa concentração quando comparada ao substrato oxidado, reduz, atrasa e até mesmo evita a oxidação dos determinados alvos celulares. Os antioxidantes são responsáveis pela defesa celular contra a ação dos radicais livres . (YASHIN, 2017)

1.2.7.5.2. Taninos e ácido gálico

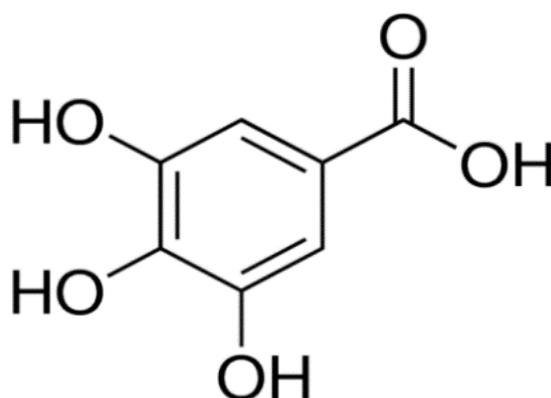
Os taninos estão entre os principais compostos da casca de *S. terebinthifolius*. Várias atividades biológicas como anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica e anticancerígena são atribuídas aos taninos. (PECKOLT, 2013)

Segundo a estrutura química, os taninos são classificados em dois grupos: hidrolisáveis e condensados. Os taninos hidrolisáveis são unidos por ligações éster-carboxila, sendo prontamente hidrolisáveis em condições ácidas ou básicas, são encontrados em abundância em folhas e frutas. Já os taninos condensados são constituídos por unidades flavonol e estão presentes em maior quantidade nos alimentos. (MELO *et al.*, 2009)

Ácido gálico ou 3,4,5-ácido trihidroxibenzoico é um tanino, com um grupo benzênico, com três hidroxilas e uma subunidade carboxilada, que podem ser obtidos através de taninos hidrolisáveis, advindos da via do ácido chiquimico, um intermediário do metabolismo secundário das plantas. Sua capacidade antirradical e antioxidante está associada a posição do grupo OH, a ordem de arranjo, a presença de outros grupos funcionais e sua posição. (GRUNDHÖFER *et al.*, 2001)

O ácido gálico, pode ser obtido através da hidrólise ácida de taninos hidrolisáveis, e, por ser um dos principais componentes destas moléculas, as suas propriedades biológicas e de seus análogos têm sido amplamente investigadas. Sua função ácida permite a introdução dos mais variados substituintes, possibilitando, desta forma, a obtenção de inúmeros análogos ésteres com os mais distintos efeitos farmacológicos.

Figura 5- Estrutura química do ácido gálico



Fonte: GRUNDHÖFER *et al.*, 2001

O ácido gálico é reconhecido por apresentar diversas atividades farmacológicas benéficas. Dentre elas podemos citar atividade antioxidante, antifúngica, antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, antihiperglicêmico, antimutagênica, imunomodulatória, antialérgica e antiúlcera.

Estudos comprovam que o ácido gálico aumenta a atividade de enzimas antioxidantes e diminui os níveis intracelulares de espécies reativas de oxigênio. Os testes foram realizados por Ferik e colaboradores (2011), em ratos e constatou que o ácido gálico protege o DNA contra danos induzido por radiação.

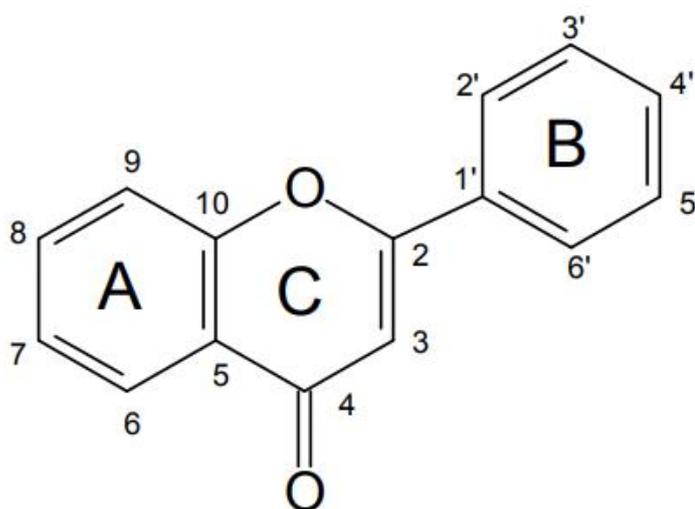
1.2.7.5.3. Flavonoides

Flavonoides são metabólitos secundários produzidos pelas plantas e representam uma das maiores classes de substâncias naturais, ocorrendo na forma livre ou como glicosídeos. A glicose é o carboidrato mais usual, porém outras unidades de açúcares podem também ser encontrados, como xibose, galactose e ramnose. (FILHO *et al.*, 2001)

Dentre os compostos fenólicos, os flavonoides são amplamente encontrados nos vegetais, em frutas, folhas e cascas, sendo, geralmente, responsáveis pela coloração e sabor das plantas, além de contribuírem também com a defesa do vegetal contra patógenos e danos oxidativos. (TERAHARA, 2015)

Os flavonoides possuem uma estrutura bastante característica, sendo simples de serem identificados. Possuem baixo peso molecular, compostos por uma cadeia de 15 carbonos, organizados na configuração C6 – C3 – C6. Possuem dois anéis aromáticos denominados A e B unidos por 3 carbonos que formam um terceiro anel heterocíclico denominado C, sendo que, substituições nos anéis A e B resultam em diferentes grupos de flavonoides, enquanto substituições em C caracteriza outra classe desses compostos. (ANGELO; JORGE, 2007)

Figura 6- Estrutura química dos flavonoides



Fonte: ANGELO; JORGE, 2007

Os flavonoides possuem uma estrutura química ideal para a atividade sequestradora de radicais livres, sendo antioxidantes mais efetivos que as vitaminas C e E (CAO, 1997). O arranjo e posicionamento dos grupos funcionais, a configuração, substituição e a quantidade dos grupos hidroxilas, são fatores na sua estrutura química que vão influenciar na capacidade de captura de radical e quelação de íons metálicos dos flavonoides e, conseqüentemente, está

interligado a sua atividade antioxidante. Outros fatores que podem ser determinantes para essa ação é a reatividade como agente doador de elétrons, a interação com membranas celulares, capacidade de quelação, reatividade frente aos antioxidantes e a estabilidade dos radicais que podem doar elétrons (DAVID *et al.*, 2004)

As plantas produzem uma grande variedade de substâncias antioxidantes contra os danos moleculares causados por ERRO. Os compostos fenólicos compreendem o principal grupo de substâncias antioxidantes de origem vegetal e, dentre eles, os flavonoides constituem o grupo mais importante. (FILHO *et al.*, 2001) A presença de flavonoides em plantas, pode estar associada à sua capacidade de agir como filtros de UV, protegendo os tecidos responsáveis pela fotossíntese de possíveis danos ao absorver essa radiação. (SIMÕES *et al.*, 1999). Nesse sentido, apresentam a propriedade de absorver raios UV protegendo as plantas da radiação solar (DAVID *et al.*, 2004).

De acordo com alguns autores, os mecanismos de ação antioxidantes podem incluir a supressão da formação das espécies reativas de oxigênio, pela inibição das enzimas ou pela quelação de elementos envolvidos na produção desses radicais, captura das espécies reativas de oxigênios, controle ou proteção das defesas antioxidantes. Os flavonoides, por sua vez, exercem os efeitos de inibição de enzimas responsáveis pela produção do ânion superóxido e de outras enzimas envolvidas na geração de outras espécies radicalares, quelação de metais e redução ou captura de radicais livres (DAVID *et al.*, 2004).

Estudos comprovaram a presença de flavonoides nas cascas, frutos e folhas da pimenta rosa. Três biflavonoides, amentoflavona, dihidroamentoflavona e tetrahidroamentoflavona, ocorrem nas cascas (Skopp & Schwenker, 1986; Varela-Barca, Agnez-Lima & Medeiros, 2007) e nos frutos agastisflavona, robustaflavona e tetrahidrorobustaflavona (Kassem, El-Desoky & Sharaf, 2004; Feuereisen *et al.*, 2017). Nas folhas, Queires e colaboradores (2006) identificaram os flavonoides: quercetina e seus glicosídeos quercitrina, isoquercitrina e rutina, kaempferol e apigenina e os fenólicos ácido cafeico e resveratrol. Quercetina, miricitrina e miricetina foram identificadas no extrato etanólico das folhas por Ceruks e colaboradores (2007).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a atividade fotoprotetora e elaborar formulações fotoprotetoras de extrato etanólico de pimenta rosa.

2.2. Objetivos específicos

- I. Realizar a triagem fitoquímica do extrato etanólico de pimenta rosa e das partições em hexano e diclorometano;
- II. Avaliar a viabilidade celular do extrato etanólico de pimenta rosa;
- III. Realizar a partição líquido-líquido em diclorometano e hexano;
- IV. Preparar as soluções para o estudo de fotoproteção;
- V. Avaliar a fotoproteção (FPS) do extrato etanólico de pimenta rosa;
- VI. Incorporar o extrato etanólico de pimenta rosa e da fração em diclorometano em Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel de Permulen TR-1 e Creme Polawax
- VII. Avaliar a fotoproteção do extrato etanólico de pimenta rosa e da fração em diclorometano em formulações incorporados com Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel de Pemulen TR-1 e Creme Polawax.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Materiais utilizados

Frutos de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi) foram coletados em Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil em abril de 2019. Um espécime foi identificado e depositado na Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) no herbário José Badini sob o código OUPR31536.

Os solventes utilizados foram etanol, diclorometano, hexano e propilenoglicol. As formulações fotoprotetoras de Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5% e Gel de Pemulen TR-1 utilizados na análise foram adquiridos na Farmácia de Manipulação BioFarma em Itabirito, Minas Gerais, Brasil. O Creme Polawax sem filtro foi obtido na Farmácia de Manipulação NatureDerme localizada na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

O Espectrofotômetro Genesys 10S UV- VIS acoplado a um computador foi utilizado para a determinação das leituras de absorbâncias.

3.2. Preparação do extrato etanólico de pimenta rosa

A extração envolveu a maceração de 1,00 Kg dos frutos de pimenta rosa à temperatura ambiente com etanol 95%. As soluções extraídas foram filtradas e submetidas à evaporação a vácuo para obtenção de 123,6 gramas de extrato etanólico bruto.

Figura 7-Extrato etanólico de pimenta rosa



Fonte: Autor, 2022

3.2. Preparação da extração líquido-líquido utilizando hexano e diclorometano

Para a realização da extração líquido-líquido 70,81 gramas de extrato etanólico bruto foi dissolvido em 100 mL de uma mistura de água / etanol na proporção 7:3. Em seguida, foi realizado a extração líquido-líquido com auxílio de um funil de decantação. Primeiramente, foi utilizado o solvente hexano e posteriormente o solvente diclorometano, totalizando quatro extrações consecutivas com 100 mL de cada solvente.

Por fim, as frações em hexano e em diclorometano oriundas foram secas e pesadas, obtendo as seguintes massas:

- i) Massa da fração hexânica = 2,2413 gramas, obtendo rendimento de 3,17 %
- ii) Massa da fração em diclorometano = 6,9756 gramas, obtendo rendimento de 9,85%.

3.3. Fracionamento da partição em diclorometano

4,12 gramas da fração em diclorometano foi purificada por cromatografia em coluna preenchida com sílica gel 60 (2,3 × 50,0 cm; 0,063-0,200 mm, 70–230 mesh, Macherey -Nagel; proporção entre amostra e adsorvente 1 : 12). A eluição com *n*-hexano-acetato de etila 1:1, *n*-hexano-acetato de etila 2:8, acetato de etila e acetato de etila-etanol 1:1 gerou 39 frações, que foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) (sílica gel GF254; Merck) e reunidos em 8 subfrações (PRFr1-PRFr8).

3.4. Triagem fitoquímica

A triagem fitoquímica qualitativa foi realizada no extrato etanólico de frutos de pimenta rosa, fração em diclorometano e fração em hexano da partição líquido- líquido para identificar seus fitoconstituintes, ou seja, alcaloides, flavonoides, fenóis/taninos e terpenoides, usando procedimentos padrão com poucas modificações. (ABU-QAOUD *et al.*, 2018; EDEOGA *et al.* 2005; EGWAIKHIDE *et al.*, 2007; USMAN *et al.*, 2009)

3.4.1. Teste para flavonoides (Teste de reagente alcalino)

Uma massa de 10 mg do extrato etanólico, fração em diclorometano e fração em hexano foram dissolvidas em 2 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 2%. Uma coloração amarela intensa indica a presença de flavonoides.

3.4.2. Teste para fenóis/ taninos (Teste de cloreto férrico)

Uma massa de 10 mg do extrato etanólico, fração em diclorometano e fração em hexano foram agitadas com 2 mL de água destilada. Foram filtradas e algumas gotas de cloreto férrico a 2% (FeCl₃) foram adicionadas e observadas quanto à coloração. A coloração verde acastanhada ou preta azulada indica a presença de taninos e fenóis.

3.4.3. Teste para saponinas (Teste de espuma)

Um volume de 5 mL de água destilada foi adicionado a 10 mg de extrato etanólico, fração em diclorometano e fração em hexano e agitado vigorosamente para uma espuma estável e persistente.

3.4.4. Teste para terpenoides (Teste de Salkowski)

10 mL de extrato etanólico, fração em diclorometano e hexano foram dissolvidos em 2 mL de clorofórmio (CHCl₃) e, em seguida, foram adicionados 3 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) para formar uma camada. Uma coloração marrom avermelhada da interface foi formada para indicar resultados positivos para a presença de terpenoides.

3.4.5. Teste para carboidratos (Teste de iodo)

2 mL de solução de iodo foi adicionado no extrato de pimenta rosa e nas partições líquido-líquido. Cores roxas ou azuis escuras indicam a presença do carboidrato.

3.4.6. Teste de antraquinonas (Teste de Borntrager)

Cerca de 0,5 g do extrato e das frações em diclorometano e hexano foram dissolvidos, em banho maria, com HCl. Foi filtrado e deixado esfriar. Em seguida, foi adicionado ao filtrado CHCl_3 . Algumas gotas de NH_3 a 10% foram adicionadas à mistura e aquecidas. A formação de coloração rosa indica a presença de antraquinonas.

3.4.7. Teste de alcaloides (Teste de Dragendorff)

Adicionou-se H_2SO_4 2% em 0,2 g do extrato e das frações em diclorometano e hexano e algumas gotas de reagente de Dragendorff foram adicionadas. O precipitado vermelho alaranjado indica a presença de alcaloides.

3.5. Preparo das soluções do extrato etanólico de pimenta rosa

Para preparar a solução de extrato etanólico de pimenta rosa, com auxílio de uma balança analítica, foi pesado 0,010 g do extrato. Posteriormente, o extrato pesado foi transferido para um béquer de 10 mL e, em seguida acrescentou uma solução de etanol 70% para total solubilização do extrato. Por fim, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, completando o volume com etanol 70%, obtendo, assim, a solução mãe na concentração de 1mg/L.

Para preparar as diluições, foi pipetado alíquotas de 0,02 μL ; 0,03 μL ; 0,05 μL ; 0,07 μL e 0,1 μL da solução mãe. Posteriormente, essas alíquotas foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL e completou-se com uma solução de etanol 70 % até atingir o menisco, resultando em cinco novas concentrações (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Após a preparação das soluções, foi realizada a varredura das absorvâncias no espectrofotômetro UV-Vis, obtendo-se os valores de FPS. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

Figura 8- Soluções do extrato etanólico de Pimenta rosa nas concentrações de 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$



Fonte: Autor, 2022

3.6. Preparo das soluções das partições do extrato etanólico de pimenta rosa

Para preparar a solução das partições do extrato etanólico de pimenta rosa, foi pesado 0,0100g da fração de hexano e diclorometano. Posteriormente, as frações pesadas foram transferidas para um béquer de 10 mL e, em seguida acrescentou uma solução de etanol 70% para total solubilização. Por fim, cada uma das frações foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, completando o volume com etanol 70%. Obtendo, assim, a solução mãe na concentração de 1mg/L.

Para preparar as diluições, foi pipetado alíquotas de 0,02 μL ; 0,03 μL ; 0,05 μL ; 0,07 μL e 0,10 μL da solução mãe. Posteriormente, essas alíquotas foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL e completou-se com uma solução de etanol 70 % até atingir o menisco, resultando em cinco novas concentrações 20 $\mu\text{g/mL}$, 30 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 70 $\mu\text{g/mL}$ e 100 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 9- Soluções da partição em hexano nas concentrações de 20 $\mu\text{g/mL}$, 30 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 70 $\mu\text{g/mL}$ e 100 $\mu\text{g/mL}$.



Fonte: Autor,2022

Figura 10- Soluções da partição em diclorometano nas concentrações de 20 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL, 70 µg/mL e 100 µg/mL.



Fonte: Autor, 2022

3.7. Preparo das formulações solares comerciais contendo extrato etanólico de pimenta rosa

O extrato etanólico de frutos de pimenta rosa foi pesados e solubilizado em uma proporção de 1:1 de etanol e propilenoglicol. Após a solubilização, foram feitas as incorporações da base comercial de protetor solar (Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel

de Pemulen TR-1 e Creme Polawax). As misturas foram colocadas sobre uma placa de agitação, para auxiliar no processo da incorporação. As incorporações permaneceram sob a placa de agitação por um período de 15 a 20 minutos. A composição final das formulações foi 0,04g de extrato de pimenta rosa, 4 mL de etanol, 4 mL de propilenoglicol e 3,16g das bases comerciais de protetor solar (Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 ou Creme Polawax).

Posteriormente, com o auxílio de uma balança analítica, pesou-se 1 g de cada formulação do extrato de pimenta rosa, previamente preparados e transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, as três formulações foram diluídas em uma mistura de etanol/propilenoglicol com a proporção de 1:1.

Também foi feita uma solução contendo apenas Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel de Pemulen TR-1 e Creme Polawax para o controle negativo do estudo.

Após a preparação das soluções, foi realizada a varredura das absorvâncias no espectrofotômetro UV-Vis, obtendo-se os valores de FPS. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

3.8. Preparo das formulações contendo a fração em diclorometano de pimenta rosa

A fração da partição líquido-líquido em diclorometano foi pesada e solubilizada em uma proporção de 1:1 de etanol e propilenoglicol. Após a solubilização, foram feitas as incorporações da base comercial de protetor solar (Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel de Pemulen TR-1 e Creme Polawax). As misturas foram colocadas sobre uma placa de agitação, para auxiliar no processo da incorporação. As incorporações permaneceram sob a placa de agitação por um período de 15 a 20 minutos. A composição final das formulações foi 0,04g da fração em diclorometano, 4 mL de etanol, 4 mL de propilenoglicol e 3,16g das bases comerciais de protetor solar (Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 ou Creme Polawax).

Posteriormente, com o auxílio de uma balança analítica, pesou-se 1 g de cada formulação contendo a fração em diclorometano, previamente preparados e transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, as três formulações foram diluídas em uma mistura de etanol/propilenoglicol com a proporção de 1:1.

Após a preparação das soluções, foi realizada a varredura das absorvâncias no espectrofotômetro UV-Vis, obtendo-se os valores de FPS. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

3.9. Determinação do FPS do extrato utilizando espectrofotômetro de UV

A avaliação fotoprotetora foi realizada utilizando a técnica de espectrofotometria na região de UV desenvolvida pelo Método Mansur. As leituras de absorvâncias das incorporações foram feitas utilizando-se o Espectrofotômetro Genesys 10S para determinação da absorvância máxima nas regiões ultravioleta A e B (UVA e UVB). Foram preparadas 12 (doze) soluções:

- i) solução de extrato etanólico de pimenta rosa;
- ii) solução de extrato etanólico de pimenta rosa na fração em hexano;
- iii) solução de extrato etanólico de pimenta rosa na fração em diclorometano;
- iv) solução de extrato etanólico de pimenta rosa incorporado em Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%;
- v) solução de extrato etanólico de pimenta rosa incorporado em Gel de Pemulen TR-1;
- vi) solução de extrato etanólico de pimenta rosa incorporado em Creme Polawax;
- vii) solução da partição em diclorometano incorporado em Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%;
- viii) solução da partição em diclorometano incorporado em Gel de Pemulen TR-1;
- ix) solução da partição em diclorometano incorporado em Creme Polawax;
- x) solução do Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%;
- xi) solução do Gel de Pemulen TR-1;
- xii) solução do Creme Polawax.

As soluções i, ii e iii apresentavam concentrações de 20 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL, 70 µg/mL e 100 µg/mL. As soluções de iv a vi foram realizadas para avaliar a fotoproteção do extrato etanólico de pimenta rosa incorporado à formulações fotoprotetoras. As soluções de vii a ix foram realizadas para avaliar a fotoproteção da partição em diclorometano incorporado à formulações fotoprotetoras. Já as soluções de x a xii foram elaboradas para o controle negativo do estudo.

Para determinar a absorvância máxima na região ultravioleta, cada amostra foi transferida para cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. A varredura das soluções foi realizada em triplicata entre os comprimentos de ondas 200 a 800 nm no Espectrofotômetro UV-Vis. Posteriormente, o Fator de Fotoproteção Solar (FPS) foi calculado baseando-se no método de Mansur, nas leituras de absorção entre 290 a 320 nm, com intervalos de 5 nm, apresentado pela Equação 1.

Figura 11- Determinação do FPS do extrato etanólico de pimenta rosa incorporados ao Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax



Fonte: Autor, 2022

3.10. Viabilidade celular

Células L929 de fibroblastos murinos, cultivadas em meio RPMI 1640 (Sigma®) foram distribuídas em placa de microtitulação de 96 poços (densidade de 5×10^4 células) e foram incubadas a 37°C com 5% de CO₂ por um período de 24 horas. As células foram tratadas com amostras dissolvidas em DMSO 2%, em concentrações variando de 1000,00 a 7,81 µg/mL. A viabilidade celular foi avaliada usando o ensaio de sulforrodamina B (SRB) (Skehan *et al.*, 1990).

Após 24 e 48 horas de incubação, o meio foi removido e as células foram fixadas com ácido tricloroacético 20% frio por 1 hora a 4°C. A placa de microtitulação foi lavada com água destilada e seca. Em seguida, as células fixadas foram coradas por 30 minutos com 0,1% SRB dissolvido em 1% de ácido acético. A placa foi lavada novamente com ácido acético a 1%, novamente deixada secar e 200 µL de tampão TRIS 10 mM (pH 10,5) foram adicionados para solubilização do corante à temperatura ambiente por aproximadamente 30 min. A absorbância das amostras foi lida no espectrofotômetro (490 nm) e os valores foram expressos como porcentagem de viabilidade celular usando o software GraphPad Prism 8.0.1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Triagem fitoquímica

O extrato etanólico dos frutos da pimenta rosa apresentou resultado positivo para flavonoides, fenóis/taninos e terpenoides . Flavonóides e compostos fenólicos foram sugeridos neste extrato etanólico, pela análise por UPLC-QTOF-MS/MS, corroborando os resultados da triagem (PINTO *et al.*,2020). A fração em diclorometano da partição apresentou resultado positivo para flavonóides e terpenóides e a fração em hexano da partição apresentou resultado positivo para terpenóides . Os testes foram baseados nas mudanças de cor após a reação do extrato com reagentes padrão para detectar metabólitos secundários. O aparecimento de uma mancha vermelho-alaranjada no teste de Dragendorff foi considerado resultado positivo para a presença de alcaloides. Uma coloração amarela intensa indicava a presença de flavonoides. A coloração verde acastanhada ou preta azulada indica a presença de taninos e fenóis. Uma espuma estável e persistente indicou a presença de saponinas . Uma coloração marrom foi formada para indicar resultados positivos para a presença de terpenoides . Uma coloração azul escuro/roxo indica a presença de carboidratos e a presença de uma coloração rosa, vermelha ou violeta na fase amoniacal (inferior) indica a presença de antraquinonas livres .

Tabela 2- Análise fitoquímica do extrato etanólico de pimenta rosa, fração em diclorometano da partição e fração em hexano da partição

Teste fitoquímico	Extrato etanólico	Fração em Diclorometano	Fração em Hexano
Alcaloides (teste de Dragendorff)	(-)	(-)	(-)
Flavonóides (teste de reagente alcalino)	(+)	(+)	(-)
Fenóis/Taninos (teste de cloreto férrico)	(+)	(-)	(-)
Saponinas (teste da espuma)	(-)	(-)	(-)
Terpenoides (teste de Salkoski)	(+)	(+)	(+)
Carboidrato (teste de iodo)	(-)	(-)	(-)
Antraquinonas (teste de Borntrager)	(-)	(-)	(-)

+ = presente; - = ausente

4.2. Determinação de FPS do extrato etanólico de pimenta rosa

O FPS foi avaliado pela metodologia desenvolvida por Mansur e colaboradores. A análise foi realizada em espectrofotômetro de ultravioleta Genesys 10S UV- VIS acoplado a um computador. Os valores das absorvâncias obtidos foram alocados na equação 1, fornecendo os dados dos valores de FPS do extrato etanólico de pimenta rosa nas concentrações de 20 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL, 70 µg/mL e 100 µg/mL, apresentados na Tabela 3.

Tabela 3-Valores de FPS (média ± desvio padrão) do extrato etanólico de pimenta rosa.

Concentração (µg/mL)	FPS Extrato Pimenta Rosa
20	2,5264 ± 0,0075
30	3,2303 ± 0,0299
50	3,7646 ± 0,0428
70	5,7510 ± 0,0045
100	7,7599 ± 0,01392

Foram analisadas cinco concentrações diferentes de extratos de pimenta rosa, em triplicata. Os resultados mostraram que o FPS obtido aumentou conforme a concentração do extrato foi aumentada, o que está diretamente relacionado ao teor de flavonoides e outras substâncias presentes na composição da pimenta rosa. Essas substâncias são conhecidas por serem capazes de absorver a radiação ultravioleta e, conseqüentemente, proporcionar uma proteção solar.

Com base nos valores de FPS demonstrados é possível afirmar que o extrato etanólico de pimenta rosa apresentou valores de FPS adequados como descrito na RDC N° 629 de 10 de março de 2022 (BRASIL, 2022), a qual determina que para um produto ser considerado fotoprotetor deve apresentar um FPS de no mínimo 6.

4.3. Determinação do FPS das frações em hexano e diclorometano

O fracionamento por partição implica numa dissolução seletiva e distribuição entre as fases de dois solventes imiscíveis. Este fenômeno pode ser aplicado com vistas à separação de componentes de uma mistura de substâncias presentes em um extrato vegetal (FALKENBERG *et al.*, 2001).

Sendo assim, o FPS da partição líquido- líquido em hexano e diclorometano do extrato etanólico de pimenta fora foi avaliado pela metodologia desenvolvida por Mansur e colaboradores. Os valores das absorvâncias obtidos foram alocados na equação 1, fornecendo os dados dos valores de FPS das frações em hexano e diclorometano nas concentrações de 20 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL, 70 µg/mL e 100 µg/mL, apresentados na Tabela 4.

Tabela 4- Valores de FPS (média ± desvio padrão) das frações em hexano e diclorometano

Concentração (µg/mL)	Fração em hexano	Fração em diclorometano
20	0,3338 ± 0,0100	1,7950 ± 0,0065
30	0,2677 ± 0,0634	1,9789 ± 0,1613
50	0,3061 ± 0,0032	2,8679 ± 0,0065
70	0,2505 ± 0,0043	2,5622 ± 0,0022
100	0,5414 ± 0,0043	4,8033 ± 0,0157

Tabela 5- Valores de FPS das subfrações isoladas do fracionamento da fração em diclorometano da pimenta rosa.

Subfração	20 µg/mL	30 µg/mL	50 µg/mL	70 µg/mL	100 µg/mL
PRFr1	0,1061 ± 0,0026	0,1256 ± 0,0008	0,2504 ± 0,0021	0,3696 ± 0,0012	0,3720 ± 0,0014
PRFr2	-0,1220 ± 0,0021	0,0049 ± 0,0031	0,3837 ± 0,0049	0,3509 ± 0,0006	0,4480 ± 0,0036
PRFr3	0,7081 ± 0,0016	1,0396 ± 0,0041	1,2946 ± 0,0010	0,4671 ± 0,0017	1,8566 ± 0,0061
PRFr4	0,2861 ± 0,0039	0,8097 ± 0,0013	1,3174 ± 0,0034	1,7493 ± 0,0032	2,5072 ± 0,0237
PRFr5	0,6901 ± 0,0018	2,5642 ± 0,0120	4,3815 ± 0,0239	6,8686 ± 0,0146	10,3607 ± 0,0341
PRFr6	0,9065 ± 0,0020	2,8354 ± 0,0195	4,5822 ± 0,0136	6,3298 ± 0,0254	9,3892 ± 0,0240
PRFr7	0,9328 ± 0,0027	2,6771 ± 0,0341	4,4597 ± 0,0033	6,4194 ± 0,0306	8,9386 ± 0,0639
PRFr8	0,4652 ± 0,0009	1,4486 ± 0,0017	2,3892 ± 0,0024	3,4543 ± 0,1059	5,1442 ± 0,0191

Foram analisadas cinco concentrações diferentes das partições em hexano e diclorometano, ambas em triplicata. Com base nos dados apresentados nota-se que a fração em diclorometano apresenta um valor de FPS superior ao valor de FPS na fração em hexano. No

entanto, as frações em hexano e em diclorometano apresentaram um valor de FPS menor quando comparado ao extrato etanólico de pimenta rosa, como demonstrados.

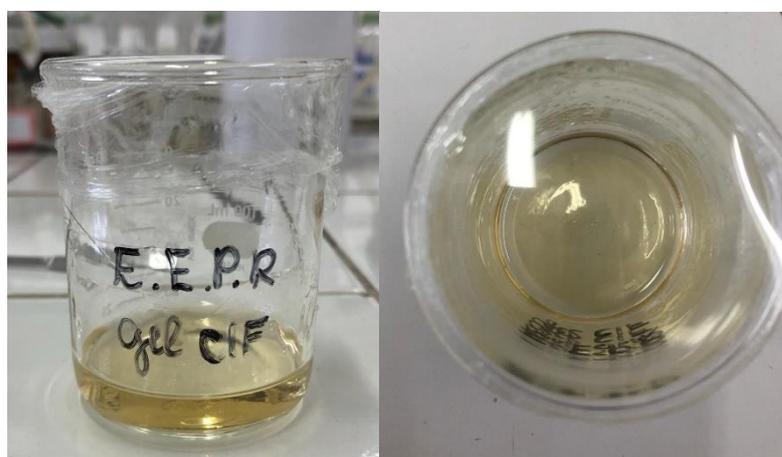
4.4. Formulações fotoprotetoras incorporadas com extrato etanólico de pimenta rosa e incorporadas com a fração em diclorometano

As formulações incorporadas apresentaram-se homogêneas e com coloração amarelo claro.

As figuras 12, 13 e 14 representam as formulações com o extrato etanólico de pimenta rosa incorporadas a Gel Pemulen TR-1, Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5% e Creme Polawax, respectivamente.

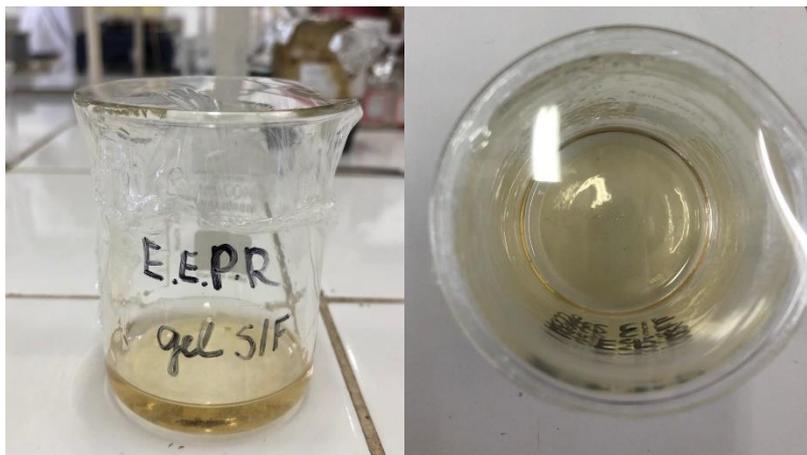
As figuras 15, 16 e 17 representam as formulações com a fração em diclorometano incorporadas a Gel Pemulen TR-1, Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5% e Creme Polawax, respectivamente.

Figura 12- Formulação do extrato etanólico de pimenta rosa em Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%



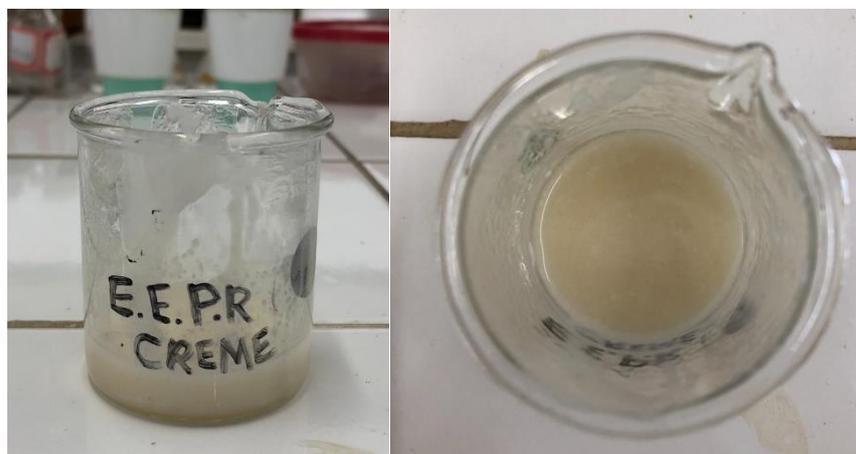
Fonte: Autor, 2022

Figura 13- Formulação do extrato etanólico de pimenta rosa em Gel Pemulen TR-1



Fonte: Autor, 2022

Figura 14- Formulação de extrato etanólico de pimenta rosa em Creme Polawax



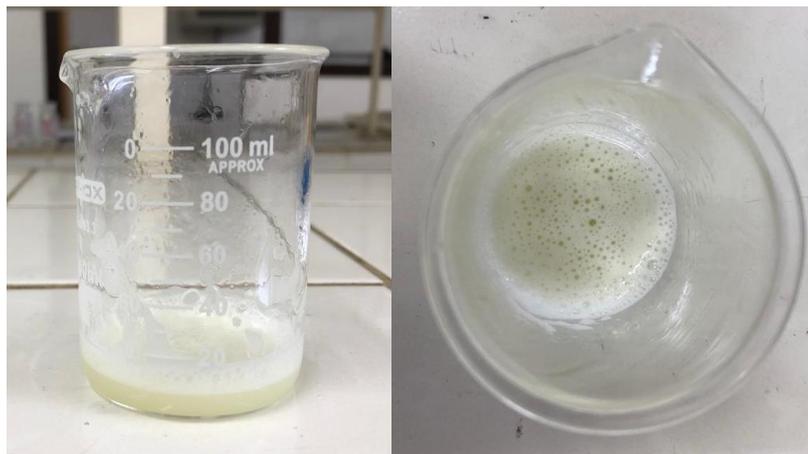
Fonte: Autor, 2022

Figura 15- Formulação da fração em diclorometano em Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%



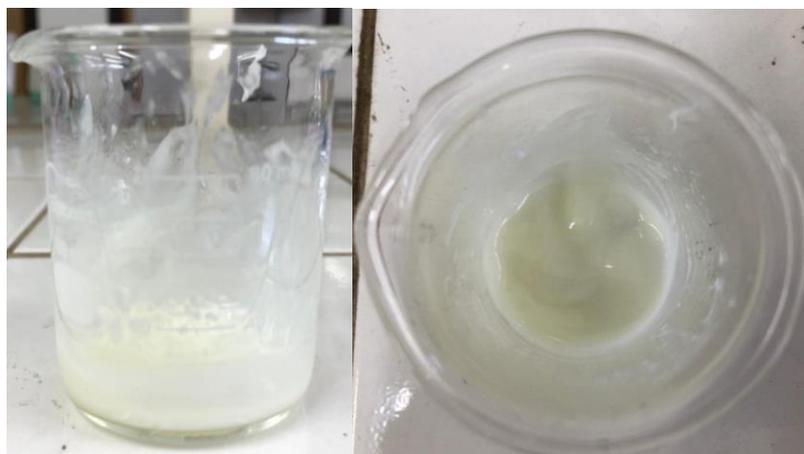
Fonte: Autor, 2022

Figura 16- Formulação da fração em diclorometano em Gel Pemulen TR-1



Fonte: Autor, 2022

Figura 17- Formulação da fração em diclorometano incorporado em Creme Polawax



Fonte: Autor, 2022

Neste trabalho, foram desenvolvidas 6 (seis) formulações. O princípio ativo das três primeiras formulações era o extrato etanólico de pimenta rosa e das três últimas formulações foi a partição em diclorometano. Em todas as formulações os solventes propilenoglicol e etanol 70 % foram utilizados como excipientes. O propilenoglicol é um solvente adequado para a incorporação de ingredientes ativos em preparações farmacêuticas e cosméticas. Já quando se trata do etanol 70% tem-se que o seu uso é empregado na indústria cosmética e farmacêutica não apenas com a função de solvente, como também como um conservante antimicrobiano e como desinfetantes.

Foram utilizados 3 (três) tipos de veículos das formulações: Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax.

O Gel Pemulen TR-1 trata-se de um emulsificante polimérico versátil, não irritativo e estável a altas e baixas temperaturas. O Gel Pemulen pode emulsificar até 30 % óleo por peso, dentro de uma faixa de pH de 4 – 5,5 e até 20 % de óleo na faixa de pH de 3-11. Dessa forma,

pode ser considerado um veículo adequado para formulações de protetor solar. (VARSHA *et al.*, 2011). Em relação ao Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5% há um acréscimo de filtro 5% UVA-UVB, intensificando a proteção solar.

O Creme Polawax é uma base não iônica. É um sistema estável de liberação para muitos ativos em uma ampla faixa de pH, tolerantes a eletrólitos e dispersante. Se trata de um veículo indicado em cremes e loções para o cuidado da pele e protetor solar. O creme possui aspecto homogêneo, brilhante, macio e fino. (ZANIN,2001)

4.5. Determinação do FPS do extrato etanólico de pimenta rosa e da fração em diclorometano incorporados à formulação fotoprotetora de Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax

A avaliação da atividade fotoprotetora do extrato etanólico de pimenta rosa foi realizada nas formulações de Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax através de análises espectrofotométricas.

Tabela 6- Valores de FPS (média \pm desvio padrão) do extrato etanólico de pimenta rosa incorporado ao Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax e seus respectivos controles negativos

Incorporação de Extrato etanólico de Pimenta-rosa	FPS	Controle Negativo (FPS)
Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%	33,1018 \pm 0,4116	28,9694 \pm 0,3335
Gel Pemulen TR-1	24,1730 \pm 1,2872	3,9250 \pm 0,4811
Creme Polawax	19,9046 \pm 1,7978	10,2059 \pm 1,789

A avaliação da atividade fotoprotetora da fração em diclorometano foi avaliada nas formulações de Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax através de análises espectrofotométricas.

Tabela 7- Valores de FPS (média \pm desvio padrão) da fração em diclorometano incorporado ao Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax e seus respectivos controles negativos

Incorporação da fração em diclorometano	FPS	Controle Negativo (FPS)
Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%	32,8190 ± 0,6513	28,9694 ± 0,3335
Gel Pemulen TR-1	17,5588 ± 1,6880	3,9250 ± 0,4811
Creme Polawax	28,5290 ± 2,6843	10,2059 ± 1,789

Como apresentado na Tabela 7, o Gel de Pemulen TR-1 UVA- UVB 5% apresentou um maior valor de FPS, comparando-se com as demais formulações. O Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5% sem a incorporação do extrato etanólico de pimenta rosa apresentou FPS igual a 28,9694 e, quando incorporado ao extrato etanólico de pimenta rosa observa-se um aumento significativo no valor de FPS da formulação, no total de 32,8190.

O Gel Pemulen TR-1 apresentou um FPS no valor de 3,9250 e quando incorporado ao extrato etanólico de pimenta rosa ocorreu um aumento significativo no valor de FPS indo para 17,5588.

O Creme Polawax apresentou um valor de FPS igual a 10,2059 e, quando incorporado ao extrato etanólico de pimenta rosa, esse valor passa para FPS igual a 28,5290.

Analisando de uma forma geral, todas as incorporações promoveram proteção solar, demonstraram que o extrato promoveu a intensificação dos valores de FPS das formulações, garantindo uma maior proteção contra a radiação solar. Isto pois todas as incorporações apresentaram um valor de FPS maior, quando comparado ao controle negativo. Ademais, foi observado que formulações contendo extrato etanólico de pimenta rosa apresentou um valor de FPS maior, quando comparado as formulações incorporadas com a fração em diclorometano. Desse modo, observa-se que o maior valor de FPS advém da incorporação de extrato etanólico de pimenta rosa em Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, no valor de 33,1018, obtendo um valor adequado para um protetor solar.

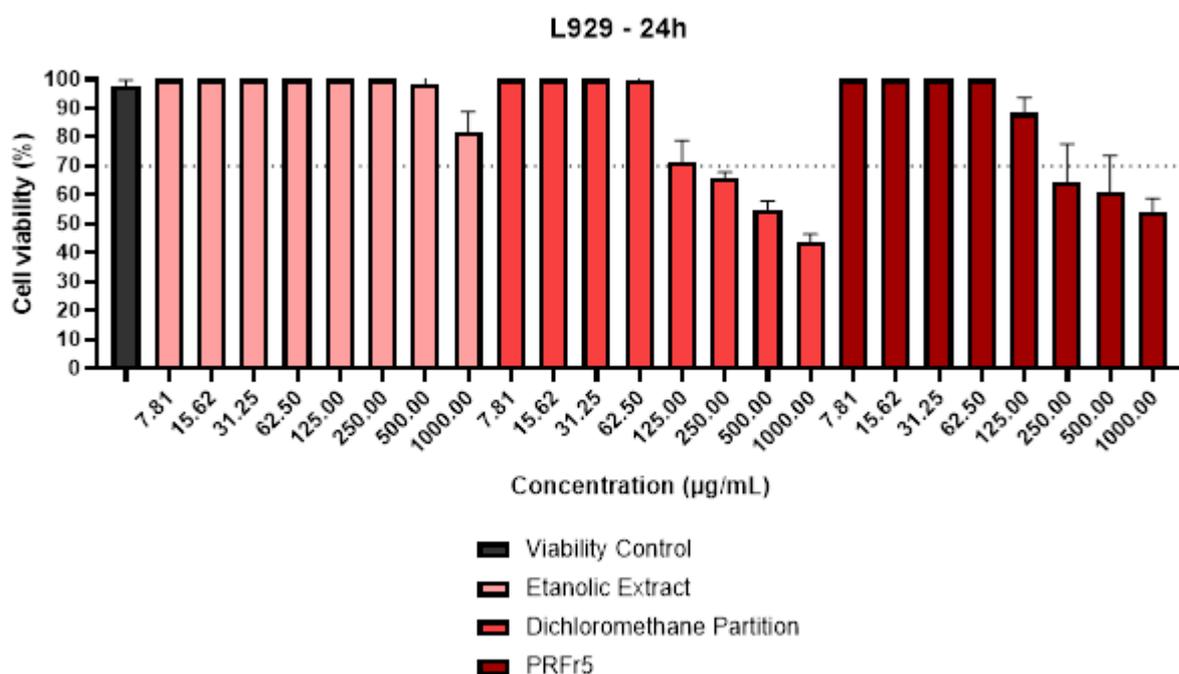
4.6. Viabilidade celular

Avaliar a viabilidade celular de extratos, partições e frações é crucial para compreender os potenciais efeitos tóxicos e determinar dosagens seguras para a aplicação pretendida.

(Sonawane, SJ *et al.*, 2015) Neste projeto, foi utilizada como referência a norma ISO 10993-5 de 2009, que recomenda que as amostras sejam consideradas citotóxicas quando a viabilidade for inferior a 70%. Assim, os fibroblastos L929 são uma linha celular de fibroblastos murinos amplamente utilizada em investigações *in vitro*. Tais células têm sido empregadas em diversos estudos relacionados à biologia celular, cicatrização de feridas e avaliação da citotoxicidade de drogas, materiais ou extratos (PAINO *et al.*, 2016; Sousa, LRD *et al.*, 2021).

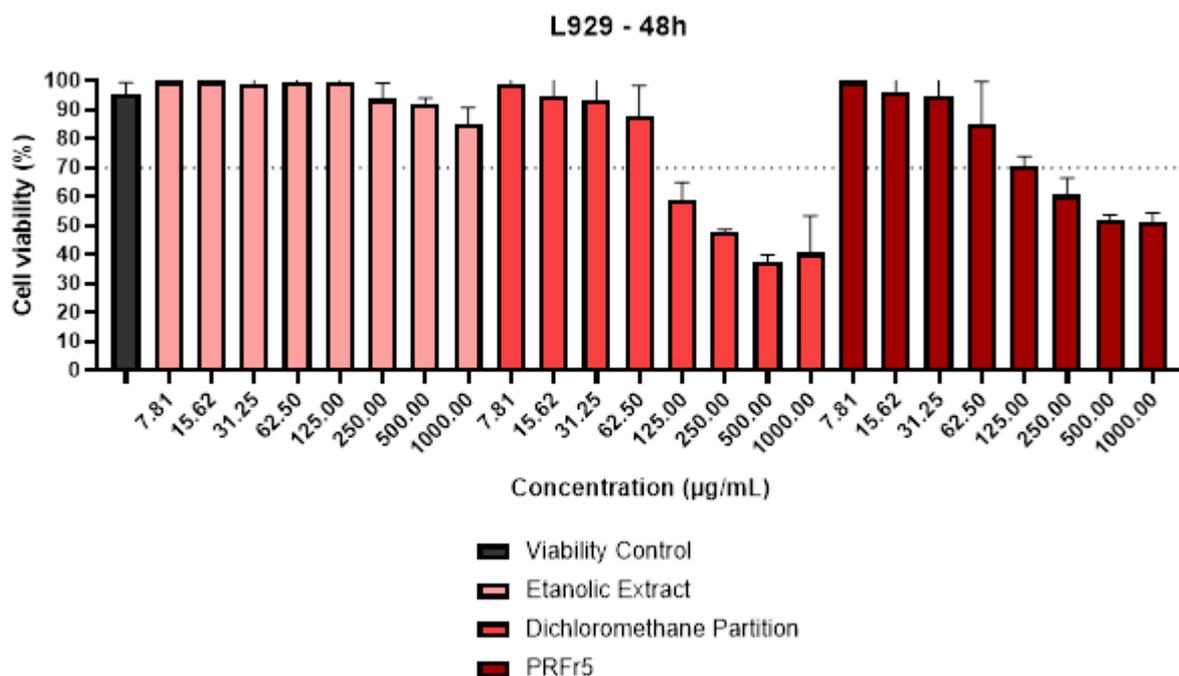
A Figura 17 mostra os resultados de viabilidade celular após 24h de tratamento. Não há citotoxicidade para as células L929 contra o extrato etanólico em todas as concentrações testadas, a partição diclorometano e PRFr5 nas cinco maiores concentrações (7,81, 15,62, 31,25, 62,50 e 125,00 $\mu\text{g/mL}$).

Figura 18 - Viabilidade celular dos extratos em células de fibroblastos L929 após 24h de tratamento com Extrato Etanólico, Partição em diclorometano e PRFr5



Em 48h após os tratamentos com as amostras (Figura 18), não há citotoxicidade para as células L929 frente ao extrato etanólico em todas as concentrações testadas, a partição do diclorometano nas quatro maiores concentrações (7,81, 15,62, 31,25 e 62,50 $\mu\text{g/mL}$) e a PRFr5 nas cinco maiores concentrações (7,81, 15,62, 31,25, 62,50 e 125,00 $\mu\text{g/mL}$).

Figura 19 - Viabilidade celular dos extratos em células de fibroblastos L929 após 48h de tratamento com Extrato Etanólico, Partição em diclorometano e PRFr5



Comparando nossos resultados com a literatura, podemos observar semelhanças. O trabalho dos autores que desenvolveram hidrogéis de alginato de sódio para obter uma formulação semissólida de base nano para aplicação na pele com o extrato hidroalcoólico de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi demonstraram ausência de citotoxicidade contra fibroblastos L929 na faixa de concentração de 0,025 mg/mL e 10 mg/mL, corroborando nosso estudo e sugerindo a segurança desse tipo de extrato para uso tópico (DE OLIVEIRA *et al.*, 2021). Outro estudo avaliou a citotoxicidade do extrato hidroetanólico bruto da casca do caule de *S. terebinthifolius*, bem como suas frações. A CC_{50} encontrada para o extrato bruto e suas frações contra células Vero (rim de macaco verde africano) ficou entre 95,00 e 308,00 µg/mL, semelhante aos nossos resultados (Nocchi SR *et al.*, 2016). Além disso, o extrato etanólico, partição diclorometano e PRFr5 em nosso estudo apresentaram citotoxicidade apenas em concentrações superiores às necessárias para alcançar atividade fotoprotetora e antioxidante, sugerindo a segurança de sua aplicação em concentrações ativas.

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos do estudo de fotoproteção, foi possível verificar que o extrato etanólico de Pimenta rosa possui atividade fotoprotetora significativa, demonstrando que os objetivos deste trabalho foram alcançados.

A extração líquido-líquido na fração em diclorometano apresentou um valor de FPS superior comparando-se com a fração em hexano. Ademais, observou-se que a concentração de 1 mg/ mL apresentou um valor de FPS superior, comparando-se com as demais concentrações analisadas deste trabalho. Isso se dá devido ao alto teor de flavonoide e de outras substâncias presentes na composição da pimenta rosa.

O extrato etanólico de Pimenta rosa demonstrou ter um efeito potencializador na atividade fotoprotetora das formulações de Gel Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%, Gel Pemulen TR-1 e Creme Polawax, sendo o efeito fotoprotetor mais eficaz na formulação de Gel de Pemulen TR-1 UVA-UVB 5%.

Outrossim, a viabilidade celular foi avaliada, demonstrando que o extrato etanólico de pimenta rosa e a fração em diclorometano apresentaram citotoxicidade apenas em concentrações superiores às necessárias para alcançar atividade fotoprotetora e antioxidante, sugerindo a segurança de sua aplicação em concentrações ativas.

Portanto, o presente estudo demonstrou a importância em utilizar extratos vegetais em preparações de protetores solares, uma vez que se observou um aumento significativo nos valores de FPS associados às formulações utilizadas nesta pesquisa acarretando, conseqüentemente, uma maior proteção contra a radiação ultravioleta.

6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J.R.G.S.; JUNIOR, R.G.O. Prospecção tecnológica de fotoprotetores derivados de produtos naturais. **Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 3, n. 1, p. 32-40, 2013.
- ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos- uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.
- ANVISA, A. N. D. V. S. **Farmacopeia Brasileira: Código Oficial Farmacêutico**. 6. ed. Brasil: Anvisa, 2019. p. 1.
- ARAUJO, T.S.de; SOUZA, S.O. de. Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta. **Scientia Plena**, Sergipe, v.4, n.11, 2008
- BARON ED, Kirkland EB, Domingo DS. Advances in photoprotection. **Dermatol Nurs**. 2008; 20:265-72
- BERNARDES NR. Estudo da composição química e dos efeitos imunofarmacológicos do extrato dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Dissertação de Mestrado – UENF**, 2010.
- BERTOLDI, C.M. Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Dissertação mestrado, Universidade Federal de Viçosa**, 2006
- BRANDÃO, M. G. L. et al. Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in the official Pharmacopoeia. **Journal of Ethnopharmacology**, 120: 141-148, 2008
- BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA- **RDC N° 69, DE 23 DE MARÇO DE 2016**. Dispõe sobre o “REGULAMENTO TÉCNICO MERCOSUL SOBRE LISTA DE FILTROS ULTRAVIOLETAS PERMITIDOS PARA PRODUTOS DE HIGIENE PESSOAL, COSMÉTICOS E PERFUMES”. Disponível em: https://bvsm.sau.de.gov.br/bvs/sau.delegis/anvisa/2016/rdc0069_23_03_2016.pdf. Acesso em: 03 nov.2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. Resolução – RDC N° 629, de 10 de março de 2022. Dispõe sobre protetores solares e produtos multifuncionais em cosméticos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 de março de 2022.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. 1 ed. Brasília, v. 1, 1926

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília, Ministério da Saúde, 2012

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS : *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae (Aroeira-da-praia) [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília : Ministério da Saúde, 2021.

Bulletin of the **World Health Organization.** Regulatory situation of herbal medicines. A worldwide review, Geneva, 1998.

CAO, G., SOFIC, E., PRIOR, R.L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-Activity relationships. **Free Radical Biology e Medicine.** V. 22, p. 749-760, 1997

CARVALHO, M. G.; MELO, A. G. N.; ARAGÃO, C. F. S.; RAFFIN, F. N.; MOURA, T. F. A. L. *Schinus terebinthifolius* Raddi: composição química, propriedades biológicas e toxicidade. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 15, n. 1, p. 158-169, 2013.

CERUKS, M. et al. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova**, 30: 597-599, 2007.

CHAVAN, U.D., SHAHIDI, F., NACZK, M. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. **Food Chemistry** n.75 p. 509-512, 2001

Costa EM, Evangelhista AP, Medeiros, ACD, Dametto, FR, Carvalho, RA. In vitro evaluation of the root canal cleaning ability of plant extracts and their antimicrobial action. *Brazilian Oral Research.* 2006;26(3):215-21.

DAVID, J.P.; BARREIROS, A.L.B.S., DAVID,J.M. Antioxidantes de fontes naturais. Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas.. Ribeirão Preto, SP- **Tecmedd**, p. 123-158, 2004.

de Oliveira DM, Menezes DB, Andrade LR, Lima FDC, Hollanda L, Zielinska A, Sanchez-Lopez E, Souto EB, Severino P. Nanopartículas de prata obtidas de extratos de pimenta brasileira com efeito antimicrobiano sinérgico: produção, caracterização, formulação de hidrogel , viabilidade celular e eficácia in vitro. **Pharm Dev Technol**. 2021 junho ;26 (5):539-548. doi : 10.1080/10837450.2021.1898634. Epub 2021 16 de março. PMID: 33685334.

DE PAOLA, M. V. R. Princípios de formulação de protetores solares. *Cosmetics & Toiletries* (Edição em Português), São Paulo, v. 13, p. 74-82, 2001

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 617-622, 2005.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; SANTOS, R. J. Atividade antioxidante de extrato de fruto de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 2, p. 83-89, 2004.

FERK, F.; CHAKRABORTY, A.; JÄGER, W.; KUNDI, M.; BICHLER, J.; WAGNER, K.; GRASL-KRAUPP, B.; SAGMEISTER, S.; HAIDINGER, G.; HOELZL, C.; NERSESYAN, A.; DU, M.; KNASMÜLLER, S.; SIMI, T. Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis Potent protection of gallic acid against DNA oxidation : Results of human and animal experiments. v. 715, p. 61–71, 2011.

FERNANDES, Nicolás Martins. Uma síntese sobre aspectos da fotossíntese. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v. 11, n. 2, p. 1-6, jan. /2011. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/500/50021611002.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2023

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

FEUEREISEN, M. M. et al. Characterization of phenolic compounds in Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) exocarp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62: 6.219-6.226, 2014.

FEUEREISEN, M. M. et al. Differentiation of Brazilian Peppertree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) and Peruvian Peppertree (*Schinus molle* L.) fruits by UHPLC-UV-MS analysis of their anthocyanin and biflavonoid profiles. **Journal Agricultural Food Chemistry**, 65: 5.330-5.338, 2017

FEUEREISEN, M. M., et al. A. Characterization of phenolic compounds in Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) exocarp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62(26), 6219–6226, 2014.

FILHO, D.W.; SILVA, E.D. da; BOVERIS, A. Flavonóides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**; Chapecó, p.317-334, 2001.

FILHO, D.W.; SILVA, E.D. da; BOVERIS, A. Flavonóides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**; Chapecó, p.317-334, 2001.

FLOR, Juliana; DAVOLOS, Marian Rosaly; CORREA, Marcos Antônio. Protetores solares. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 153-158, Feb. 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/3XPvt4JWXMcFg3hrh76CBzv/?lang=pt#>. Acesso em: 29 nov. 2021.

GILBERT.B.; FAVORETO. R. *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista fitos**, v.6, n.1, 2011.

GRUNDHOFER, P.; NIEMETZ, R.; SCHILLING, G.; GROSS, G. G. Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. **Phytochemistry**, v. 57; p. 915- 927, 2001.

IBANEZ, E., OCA, A., MURGA. G. DE, LOPEZ- SEBASTIAN, S., TABERA, J., REGLERO, G. Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants. **Jornal of agricultural and food chemistry** n.47, p. 1400-1404, 1999

ISO 10993-5. Biological Evaluation of Medical devices-Part 5: Test dor *in vitro* **Cytotoxicity**. **International Standard Organization** 2009; 2007: 1–11.

Jorge LIF, Markmann BEO. Exame químico e microscópico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira). **Revista Ciências Farmacêuticas**, São Paulo. 1996;17:139-45

KASSEM, M. E. S.; EL-DESOKY, S. K. & SHARAF, M. Biphenyl esters and biflavonoids from the fruits of *Schinus terebinthifolius*. **Chemistry of Natural Compounds**, 40: 447-450, 2004.

- LENZI, M., ORTH, A.I. 2004, Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**. 17: 67-89.
- LIMA, M. R. F. et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 105: 137-147, 2006.
- LIMA, MRF; LUNA, JS; SANTOS, AF; ANDRADE, MCC; SANT´ANA, AEG; GENETJ, J; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Atividade antibacteriana de algumas plantas medicinais brasileiras. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, pág. 137-47, 2006.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**. 4. ed. v. 1. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.
- LORENZI, H.; MATOS.F.J. de A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 2.ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum.2008.544p
- MANSUR J.S, Breder, M. N. R, Mansur, M. C. A, Azulay, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **AnNa. Bras Dermatol**. 1986; 61:121- 4
- MORTON, J. F. Brazilian pepper: its impact on people, animals and the environment. **Economic Botany**, 32: 353-359, 1978.
- NASCIMENTO, L.F.; SANTOS, E.P.; AGUIAR, A.P. Fotoprotetores orgânicos: pesquisa, inovação e a importância da síntese orgânica. **Revista Virtual Química.**, v.6, p.190-223, 2014
- NIMSE, Satish Balasaheb; PAL, Dilipkumar. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **Rsc Advances**, v. 5, n. 35, p. 27986-28006, 2015.
- Nocchi SR, de Moura -Costa GF, Novello CR, Rodrigues J, Longhini R, de Mello JC, Filho BP, Nakamura CV, Ueda-Nakamura T. Citotoxicidade in vitro e atividade anti-herpes simplex virus tipo 1 do extrato hidroetanólico , frações , e compostos isolados da casca do caule de *Schinus terebinthifolius* Raddi . **Farmacogn Mag**. 2016 abril-junho ;12 (46):160-4. doi : 10.4103/0973-1296.177903. PMID: 27076754; PMCID: PMC4809172.
- Paino IMM, Gonçalves FJ, Souza FL,Zucolotto V. **ACS Applied Materials & Interfaces** 2016; 8 (48): 32699-32705 DOI: 10.1021/acsami.6b11950.
- PALM MD, O`donoghue MN. Update on photoprotection. **Dermatol Ther**. 2007;20:360-76.

PARANHOS, A. Cultura de célula e tecidos vegetais in vivo: uma fonte alternativa de metabólitos secundários. In: CUNHA, A.P. **Farmacognosia e fitoquímica**. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2005. 66p.

PECKOLT, T. Aroeirinha. In: ALVES, L. F. Produção de fitoterápicos no Brasil: história, problemas e perspectivas. **Revista Virtual de Química**, 5(3): 450-513, 2013.

Pinto, IC, Seibert, JB, Pinto, LS et al. Preparação de cimento de ionômero de vidro contendo frutas de extrato etanólico de pimenta-do-reino (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaios químicos e biológicos. *Sci Rep* **10**, 22312 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79257-3>

QUEIRES, L. C. et al. Polyphenols purified from the Brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. **Anticancer Research**, 26: 379-387, 2006.

QUEIRES, L.C.S.; RODRIGUES, L.E.A. Quantificação das substâncias fenólicas totais em órgãos da aroeira *Schinus terebinthifolius* (RADDI) **Brazilian Archives of Biology and technology**. V.41, n.2. p. 247-253, 1998

Relação Nacional de Medicamentos Essenciais RENAME 2017 / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2017. 210 p

RIBEIRO; C. **Cosmetologia aplicada a dermoestética**. 2. ed. [S.l.]: Pharmabooks, 2006. p. 1-439.

ROSAS, E. C. et al. Anti-inflammatory effect of *Schinus terebinthifolius* Raddi hydroalcoholic extract on neutrophil migration in zymosan-induced arthritis. **Journal Ethnopharmacology**, 175: 490-498, 2015.

SANTOS CTC, et al. Comparação da atividade entre óleos essenciais de frutos verdes e maduros de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre isolados de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes. **Diversitas Journal**, v.4, n.1, p.285-291, 2019.

SANTOS, J. C. D. Radiação ultravioleta: estudo dos índices de radiação, conhecimento e prática de prevenção a exposição na região ilhéus/itabuna-bahia. **Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente**, BAHIA, v. 1, n. 1, p. 1- 174, jan. /2010.

SANTOS, J. N. Potencial fotoprotetor de extratos vegetais: Uma revisão bibliográfica. **Trabalho de Conclusão de Curso**, Universidade Federal de Ouro Preto, 2021.

SANTOS, P. L.; SANTOS, A. C. A.; SERAFINI, L. A.; ROSSATO, M.; PAULETTI, G. F. Determinação da composição química e do rendimento do óleo essencial de folhas e talos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. In: **XII ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES DA UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL**, 2004, Caxias do Sul. Anais do Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS... Caxias do Sul: Editora UCS, 2004

SANTOS, R.I.dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O. SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, 2001. p. 333-334.

SBD - Sociedade Brasileira de Dermatologia. Fotoproteção no Brasil: Recomendações da Sociedade Brasileira de Dermatologia. **Consenso Brasileiro de Fotoproteção**. Rio de Janeiro: SBD; 2013. 40p

Sgarbi FC, Carmo ED, Rosa LEB. Radiação ultravioleta e carcinogênese. **Rev Cienc Med**. 2007;16:245-50.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic, 331p., 1995

Silva AG, Almeida DL, Ronchi SN, Bento AC, Scherer R, Ramos AC, et al. The essential oil of Brazilian pepper, *Schinus terebinthifolia* Raddi in larval control of *Stegomyia aegypti* (Linnaeus, 1762). *Parasites and Vectors*. 2010;3(1).

Silva PÉRe. Estudos físico-químicos, biológicos, validação de metodologia analítica e desenvolvimento de forma farmacêutica semi-sólida a partir de extrato da aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* Raddi) [Mestrado]: UEM; 2009

SILVA, L. B. L. et al. Avaliação clínica preliminar de diferentes formulações de uso vaginal à base de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Revista Brasileira de Medicina**, 6: 381-384, 2003.

Silva-luz CL, Pirani JR. Anacardiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico, Rio de Janeiro 2012 [18 fev 2013 e 06 fev 2014]; Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/index>.

SIMÕES, C. M. O et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6^a ed. Porto Alegre: **Artmed** Editora, 2017.

SIMÕES, C. M.O., SCHENKEL., E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.P., MENTZ., L.A., PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. **Editora da Universidade, Porto Alegre/ Florianópolis**, 1999.

SKERGET, M.; KOTNIK, P.; HADOLIN, M.; HRAS, A.R.; SIMONIC, M.; KNEK,Z. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities **Food Chemistry** n.89 p. 191-1998, 2005.

SKOPP, G. & SCHWENKER, G. Biflavonoids from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Zeitschrift für Naturforschung B**, 41: 1.479-1.482, 1986.

SONAGLIO, D., ORTEGA, G.G., PETROVICK, P.R., BASSANI, V.L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, 2001. 224p.

Sonawane, SJ et al Transforming linoleic acid into a nanoemulsion for enhanced activity against methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus*. **RSC Advances** 2015; 5(110): 90482–90492.

Sousa, LRD et al. Trypanocidal activity and increased solubility of benzimidazole incorporated in PEG 4000 and its derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society** 2021; 32,6: 1162–1172.

Souza S.K.M., Santos T.A., Alves A.C.F., Oliveira A.P., Almeida A.V.H., Alves J.F.S., Cruz E.C.A., Silva J.R.S., Santos N.D.S., Pereira X.N. Identification of flavonol glycosides and in vitro photoprotective and antioxidant activities of *Triplaris gardneriana* Wedd. **J. Med. Plants Med.** 2015; 9:207–215.

SS, MILESI; SS, GUTERRESG. **Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores**. Caderno de farmácia, v.18, n.2, p.81-87, 2002

Svobodová A, Psotová J, Walterová D. Natural Phenolics in the Prevention of UvInduced Skin Damage. a Review. **Biomed Pap.** 2003;147(2):137–45.

ULIANA, M. P.; FRONZA, M.; SILVA, A. G.; VARGAS, T. S.; ANDRADE, T. U.; SCHERER, R. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 235–240, 2016.

VARELA-BARCA, F. N. T.; AGNEZ-LIMA, L. F. & MEDEIROS, S. R. B. Base excision repair pathway is involved in the repair of lesions generated by flavonoid-enriched fractions of pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) stem bark. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, 48: 672-681, 2007.

VARSHA TEGELI; Y.S. THORAT; UTKARSHA SHIVSHARAN; et al. Pemulen as a versatile emulsifier. ResearchGate. . **International Journal of Drug Formulation & Research**, 2011.

VON POSER, G.L.; MENTZ, L.A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, 2001. p. 68-69.

YASHIN, Alexander et al. Antioxidant activity of spices and their impact on human health: **A review. Antioxidants**, v. 6, n. 3, p. 70, 2017.

ZANIN et al Parâmetros Físicos No Estudo Da Estabilidade Das emulsões v. 2, n. 2, p. 47-58, Jul.-Dez./2001